

# Guida all'interpretazione dei cromatogrammi in modalità di analisi $\beta$ -Talassemia

## Indice

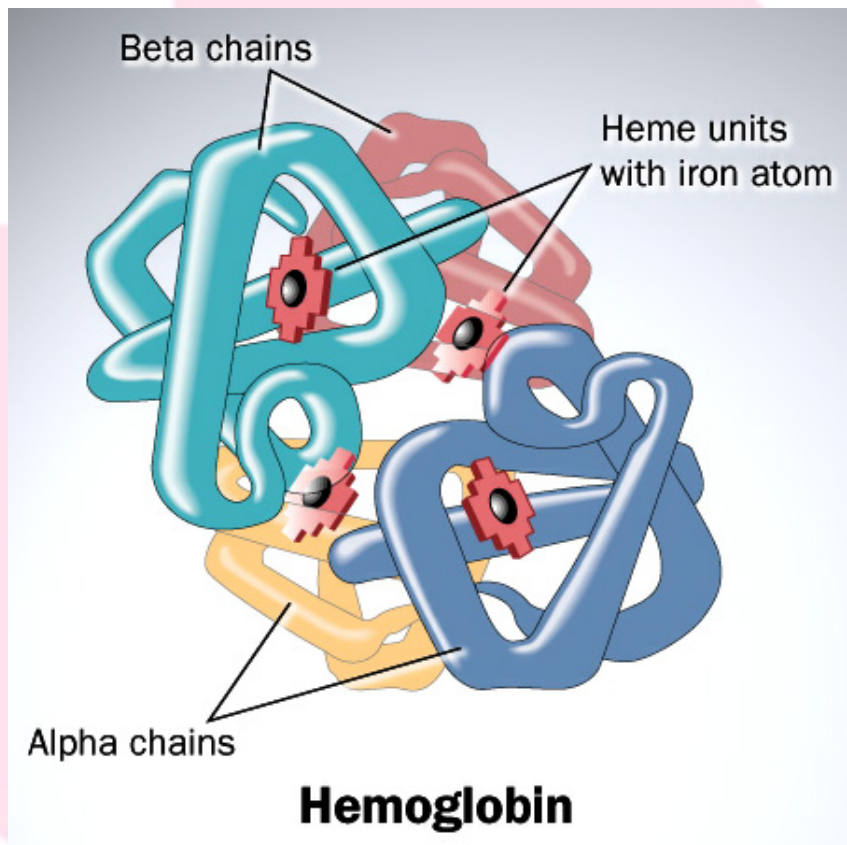
<b>INTRODUZIONE.....</b>	<b>2</b>
<b>1. CHE COS'E' L'EMOGLOBINA .....</b>	<b>5</b>
<b>2. CHE COSA SONO LE EMOGLOBINOPATIE ? .....</b>	<b>6</b>
2.1 TALASSEMIE .....	8
2.2 ANEMIA FALCIFORME .....	15
2.3 EMOGLOBINA C .....	17
2.4 MALATTIA DA EMOGLOBINA SC .....	17
2.5 EMOGLOBINA D .....	17
2.6 EMOGLOBINA E .....	18
2.7 EMOGLOBINA O-ARAB .....	18
<b>3. PRINCIPIO DI SEPARAZIONE TOSOH G7 .....</b>	<b>19</b>
3.1 PRINCIPIO DI SEPARAZIONE .....	20
<b>4. COME PROGRAMMARE INDICATORI E ALLARMI NEL SISTEMA.....</b>	<b>21</b>
<b>GUIDA ALL'INTERPRETAZIONE E LIBRARY CROMATOGRAMMI .....</b>	<b>24</b>
<b>QUALI INFORMAZIONI DA IL CROMATOGRAMMA ? .....</b>	<b>25</b>
<b>QUALI SONO I VALORI NORMALI ?.....</b>	<b>26</b>
CAMPIONE NORMALE .....	28
CAMPIONE TRATTO $\beta$ -TALASSEMICO.....	29
CAMPIONE DI $\beta$ -TALASSEMIA OMOZIGOTE DOPO TRASFUSIONE .....	30
CAMPIONE HbA/D ETEROZIGOTE .....	31
CAMPIONE HbA/D LOS ANGELES ETEROZIGOTE .....	32
CAMPIONE HbD/ $\beta$ + .....	33
CAMPIONE HbA/S ETEROZIGOTE .....	34
CAMPIONE HbS/S OMOZIGOTE .....	35
CAMPIONE HbS/ $\beta$ + .....	36
CAMPIONE HbS/ $\beta$ ° .....	37
CAMPIONE HbA/C ETEROZIGOTE .....	38
CAMPIONE HbC/C OMOZIGOTE (1) .....	39
CAMPIONE HbC/C OMOZIGOTE (2) .....	40
CAMPIONE HbS/C ETEROZIGOTE COMPOSITO .....	41
CAMPIONE HbC/O-ARAB ETEROZIGOTE COMPOSITO .....	42
CAMPIONE HbA/E ETEROZIGOTE .....	43
CAMPIONE Hb E/E OMOZIGOTE .....	44
CAMPIONE Hb E/ $\beta$ + .....	45
CAMPIONE HbS/E ETEROZIGOTE COMPOSITO .....	46
CAMPIONE $\alpha$ -TALASSEMIA CON HbH (1) .....	47
CAMPIONE $\alpha$ -TALASSEMIA CON HbH (2) .....	48
CAMPIONE $\alpha$ -TALASSEMIA CON Hb DI BART .....	49
CAMPIONE HbA/O-ARAB ETEROZIGOTE .....	50
CAMPIONE HbA/J ETEROZIGOTE .....	51
CAMPIONE HbA/J-OXFORD ETEROZIGOTE .....	52
CAMPIONE HbA/J-BALTIMORE ETEROZIGOTE (1) .....	53
CAMPIONE HbA/J-BALTIMORE ETEROZIGOTE (2) .....	54
CAMPIONE HbA/J-BANKOK ETEROZIGOTE .....	55
CAMPIONE HbA/LEPORE ETEROZIGOTE .....	56
CAMPIONE HbA/LEPORE COESISTENTE CON $\beta$ -TALASSEMIA ETEROZIGOTE .....	57
CAMPIONE VARIANTE DELLA CATENA DELTA .....	58
CAMPIONE HbA/S/G-PHILADELPHIA ETEROZIGOTE COMPOSITO COMPLESSO .....	59



CAMPIONE HbA/G-PHILADELPHIA ETEROZIGOTE .....	60
CAMPIONE HbA/G-SAN JOSE' ETEROZIGOTE .....	61
CAMPIONE HbA/OKAYAMA ETEROZIGOTE .....	62
CAMPIONE HbA/G-GEORGIA ETEROZIGOTE .....	63
CAMPIONE A/FANNIN LUBBOCK ETEROZIGOTE .....	64
CAMPIONE HbA/HASHARON ETEROZIGOTE .....	65
CAMPIONE CON PERSISTENZA EREDITARIA DI EMOGLOBINA FETALE.....	66
LEUCEMIA MIELOIDE ACUTA TIPO M0 .....	67
CAMPIONE NEONATALE NORMALE (1) .....	68
CAMPIONE NEONATALE NORMALE (2) .....	69
CAMPIONE NEONATALE HbS/C ETEROZIGOTE COMPOSITO .....	70
CAMPIONE NEONATALE HbD/C ETEROZIGOTE COMPOSITO .....	71
<b>INFORMAZIONI TECNICHE: PREDISPOSIZIONE DELLA COLONNA <math>\beta</math>-THAL .....</b>	<b>72</b>
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>73</b>
<b>GLOSSARIO .....</b>	<b>74</b>

## 1. Che cos'è l'emoglobina

Il pigmento rosso trasportatore di ossigeno presente negli eritrociti dei vertebrati si chiama emoglobina ed è una proteina coniugata del peso molecolare di 64.450 Dalton. L'emoglobina è una molecola globulare composta da 4 sub-unità. Ogni sub-unità contiene un eme, coniugato ad una catena polipeptidica. I polipeptidi nella loro totalità costituiscono la globina presente nella molecola di emoglobina. Ogni molecola di emoglobina è composta da due coppie di polipeptidi. Nell'uomo adulto normale, i due tipi di polipeptidi contenuti nell'emoglobina (Emoglobina A = HbA), si chiamano catene  $\alpha$  (alfa) e catene  $\beta$  (beta). La HbA è quindi chiamata  $\alpha_2\beta_2$ .



(Fonte: Internet)

Non tutta l'emoglobina contenuta nel sangue dell'uomo adulto normale è di tipo HbA. Circa il 2.5% dell'emoglobina è di tipo HbA<sub>2</sub>, in cui le catene  $\beta$  sono sostituite da catene  $\delta$  (delta) ( $\alpha_2\delta_2$ ).

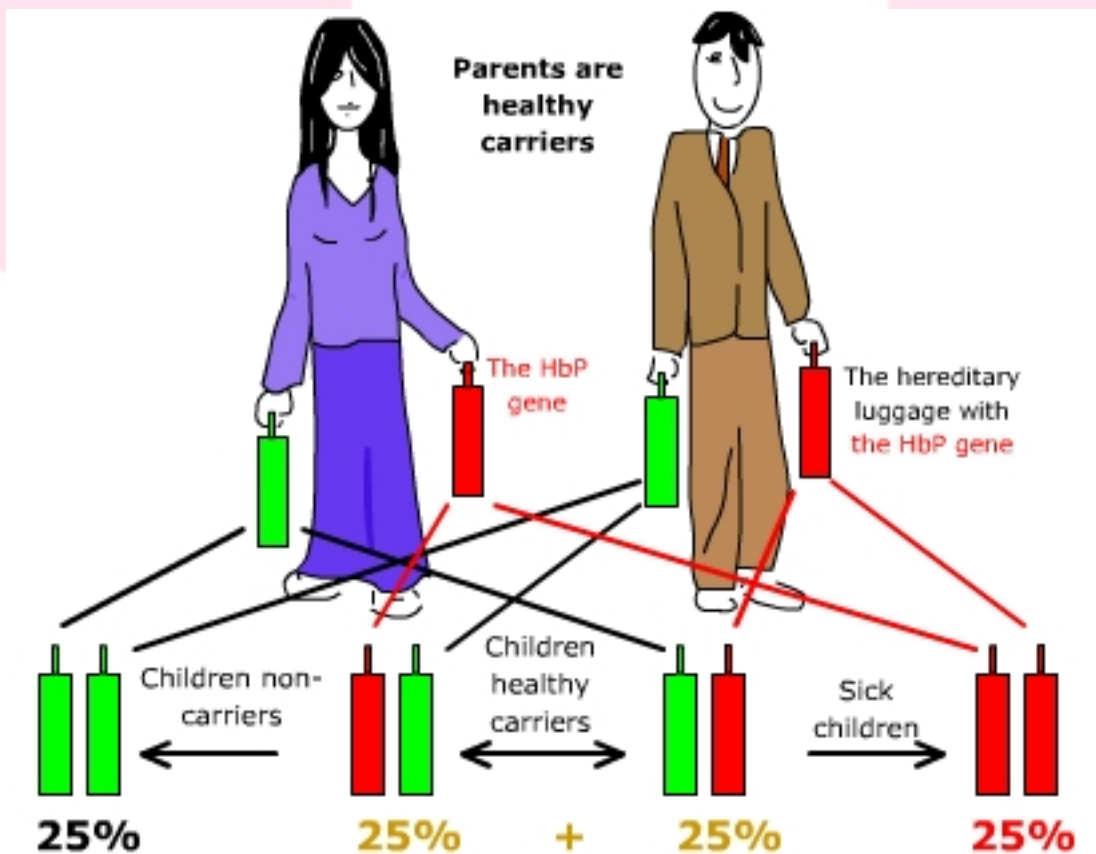
Nel feto umano, il sangue contiene normalmente emoglobina fetale (HbF). La sua struttura è simile a quella dell'HbA tranne per il fatto che le catene  $\beta$  sono sostituite da catene  $\gamma$  (gamma) ( $\alpha_2\gamma_2$ ). La HbF viene normalmente sostituita dall'emoglobina adulta poco dopo la nascita ma rimane presente ad una concentrazione inferiore al 2%. In alcuni soggetti tuttavia non scompare e persiste a concentrazioni superiori al 2% per tutta la vita, come nel caso della Persistenza Ereditaria di Emoglobina Fetale.

## 2. Che cosa sono le emoglobinopatie?

Le emoglobinopatie sono malattie caratterizzate da anomalie quantitative e qualitative nella sintesi emoglobinica. Generalmente sono costituite da malattie geneticamente ereditarie, ma a volte possono essere causate da mutazioni spontanee. Sono le malattie monogenetiche, autosomiche e recessive più comuni nell'uomo.

### Che cosa sono le malattie monogenetiche, autosomiche e recessive?

I circa 30.000 geni che compongono il nostro profilo genetico si trovano in 46 cromosomi. 44 cromosomi sono a coppie (22 dalla madre e 22 dal padre) e sono detti autosomi. I due cromosomi restanti XX o XY (o cromosomi sessuali) vengono ereditati come segue. La madre, che ha due cromosomi X, ne dà uno. Il padre invece può dare il cromosoma X, in questo caso nascerà una bambina (con due cromosomi X come la madre), o il cromosoma Y, e in questo caso nascerà un bambino (con un cromosoma X e un cromosoma Y come il padre). Le malattie **monogenetiche, autosomiche e recessive** sono malattie causate dalla mutazione di un singolo gene (**monogenetiche**) che si trova in uno dei 44 **autosomi** e che non si manifesta nel portatore (**recessive**). Perché recessive? Perché la presenza del gene equivalente, senza la mutazione nell'altro autosoma, basta per impedire l'espressione della mutazione (malattia nel caso delle emoglobinopatie) nel portatore. In altre parole, i portatori (eterozigoti) delle malattie monogenetiche, autosomiche e recessive non manifestano la malattia, che è associata alla mutazione.



Perché sussistano le **condizioni di una emoglobinopatia**, l'emoglobina anomala o talassemia deve essere ereditata da entrambi i genitori, con conseguente condizione di omozigosi o doppia eterozigosi.

Il **tratto** (condizione di portatore sano) si ha quando una persona eredita un gene Hb normale e un gene Hb anomalo. La persona in questione è sana in circostanze normali e spesso non sa di essere portatrice di emoglobina anomala (in rare eccezioni e in circostanze particolari i portatori sani possono avvertire dei sintomi). Come altri tratti recessivi, anche i tratti dell'emoglobina possono passare di generazione in generazione senza causare malattie nei discendenti, finché non vengono ereditati da entrambi i genitori.

### **Perché al mondo ci sono tanti portatori di emoglobinopatie?**

Perché i portatori di emoglobinopatie sono protetti durante l'infanzia dalle conseguenze letali della malaria tropica, e quindi sono selettivamente avvantaggiati. Questo meccanismo di selezione ha aumentato il numero dei portatori di emoglobinopatie portandolo, in media, a un 5% della popolazione mondiale. Genitori sani entrambi portatori di una emoglobinopatia possono però dare ai figli entrambi i geni che portano il difetto. Questi bambini saranno quindi omozigoti o eterozigoti composti per una mutazione associata a un'emoglobinopatia. Senza la compensazione di un gene normale che li protegge, essi saranno affetti da una anemia emolitica incurabile. In tutto il mondo sono 300.000 all'anno i bambini in gravemente colpiti nati da genitori portatori sani. Le forme di emoglobinopatie omozigote o eterozigote composite più frequenti sono la  $\beta$ -talassemia maggiore e l'anemia falciforme (sickle cell disease SCD). Tali malattie si manifestano subito dopo la nascita e possono essere anche molto gravi. Benché alcuni casi possano essere sottoposti con successo a trapianto di midollo osseo, questi pazienti rimangono incurabili e possono essere trattati solo intensivamente con una terapia di supporto per tutta la vita.

### **Prevenzione delle emoglobinopatie**

Strategie di prevenzione sono state applicate con successo in diversi paesi in cui si registrano alte percentuali di portatori di emoglobinopatie. Attualmente il problema della prevenzione delle emoglobinopatie è stato affrontato nei paesi del Nord Europa soggetti a forte immigrazione da parte di popolazione a rischio di gravi emoglobinopatie nella progenie a causa dell'alta percentuale di portatori, dell'endogamia (matrimoni interfamiliari) e degli alti tassi riproduttivi.

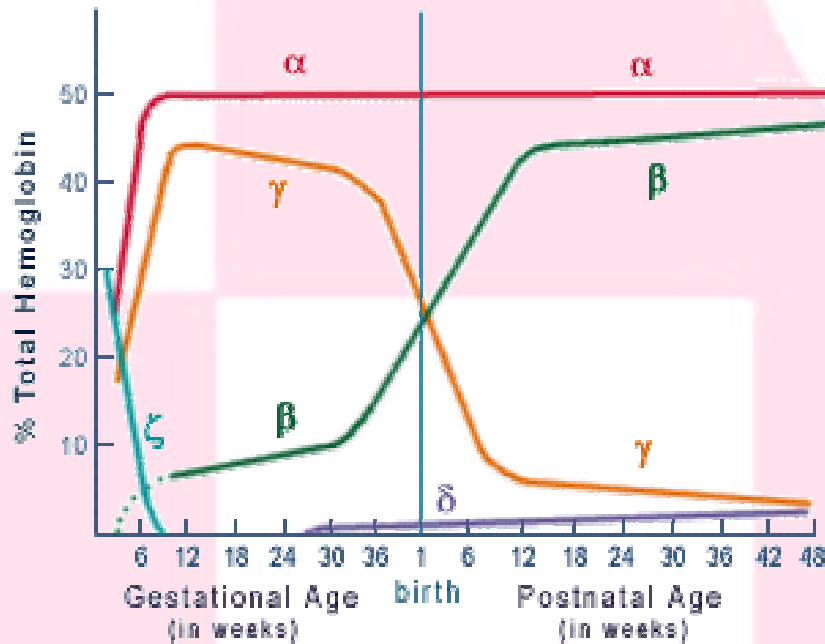
### **Le Emoglobinopatie si possono suddividere in:**

- Varianti strutturali dell'emoglobina:
  - Difetti quantitativi causati da una sintesi ridotta/squilibrata di una normale catena globinica: "Talassemie".
  - Difetti qualitativi causati dalla sintesi normale di una catena globinica anomala, spesso dovuti a sostituzioni di singoli aminoacidi nelle catene alfa-globiniche o beta-globiniche. Un esempio comune è dato dalla mutazione da Glu a Val nella posizione sei della catena beta-globinica nell'anemia falciforme
- Persistenza ereditaria di emoglobina fetale:



- difetti genetici nel passaggio della sintesi emoglobinica da fetale in adulta
- emoglobina fetale che persiste nell'età adulta

**Figura 1: Trasformazione delle catene emoglobiniche da pre-natali a post-natali.**



(Fonte: Internet)

## **2.1. Talassemie**

Il termine talassemia è usato per descrivere delle malattie genetiche della globina dovute ad una sintesi ridotta di una o più catene globiniche e quindi ad una sintesi errata dell'emoglobina o delle emoglobine a cui la catena appartiene; la  $\alpha$ -talassemia indica una sintesi ridotta della catena  $\alpha$ -globinica; analogamente, le talassemie  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\delta\beta$  e  $\epsilon\gamma\delta\beta$  indicano una sintesi anomala delle catene  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\delta+\beta$  e  $\epsilon+\gamma+\delta+\beta$ , rispettivamente. La talassemia è una delle malattie genetiche più note. Una percentuale significativamente ridotta della sintesi di un tipo di catena globinica, porta ad una sintesi sbilanciata delle catene con un eccesso della globina normale, responsabile di danni patologici ai precursori degli eritrociti e inducendo così una eritropoesi inefficace o danni agli eritrociti maturi e quindi un'anemia emolitica.

I geni che controllano la sintesi globinica sono sul cromosoma 11 (ogni cromosoma porta 1 gene  $\beta$ -, 1 gene  $\delta$ -, 1 gene  $\epsilon$ - e 2 geni  $\gamma$  identici) e sul cromosoma 16 (ogni cromosoma porta 2 geni  $\alpha$  identici e 2 geni  $\zeta$  identici). Le mutazioni e le delezioni dei geni  $\alpha$  e  $\beta$  sono potenzialmente significative in quanto comportano una sintesi ridotta dell'emoglobina adulta, o emoglobina A. Una malattia clinica grave si osserva generalmente solo quando sono colpiti entrambi i

geni  $\beta$  o tre-quattro dei geni  $\alpha$ . La  $\gamma$ -Talassemia è potenzialmente significativa solo nella vita intrauterina e nella vita neonatale, quando HbF è l'emoglobina predominante; tuttavia, poiché ci sono quattro geni  $\gamma$ , è improbabile una malattia significativa. La  $\delta$ -Talassemia non ha un significato clinico tranne quando la sua presenza può interferire con la diagnosi di una  $\beta$ -talassemia coesistente.

Nel paziente talassemico quindi, si ha una mutazione o delezione dei geni che controllano la produzione di globina. Ne consegue una minore produzione delle catene globiniche corrispondenti e un tasso anomalo di emoglobina. Il tasso anomalo porta a una carenza della sintesi emoglobinica e all'espressione della talassemia. La globina prodotta in quantità normali si avvolge formando inclusioni o aggregati di eritrociti. Tali aggregati si ossidano danneggiando la membrana cellulare e causando emodialisi, eritropoiesi inefficace o entrambe. La quantità e le proprietà di questi aggregati determinano le caratteristiche e la gravità della talassemia.

### **Demografia**

Malattie e tratti talassemici sono presenti in tutte le popolazioni, ma si riscontrano soprattutto nelle seguenti:

- Popoli del Sud-est Asiatico (Vietnamiti, Laotiani, Tailandesi, Singaporesi, Filippini, Cambogiani, Malesi, Birmani e Indonesiani)
- Cinesi
- Popoli dell'India orientale
- Africani
- Medio Orientali
- Greci
- Italiani
- Transcaucasici (Georgiani, Armeni e Azerbaigiani)

### **$\alpha$ -Talassemia**

Le  $\alpha$ -talassemie sono causate da una sintesi carente delle catene  $\alpha$ -globiniche, dovuta alla delezione o alla mutazione di uno o più dei quattro geni  $\alpha$ -globinici. Poiché la produzione della catena  $\alpha$  è uniformemente suddivisa tra i quattro geni, la carenza di uno o più di questi geni porta a un eccesso di beta-globine, e quindi alla formazione di tetrametri di  $\beta$  globine ( $\beta_4$ ) chiamati **emoglobina H** (HbH). Questi tetrameri sono più stabili e solubili di quelli formati in caso di  $\beta$ -talassemia ( $\alpha_4$ ), ma in alcune circostanze possono causare l'emolisi, accorciando la vita degli eritrociti. Le condizioni di stress ossidativo fanno precipitare l'HbH, interferendo con la funzione della membrana e portando al cedimento dell'eritrocita.

Le  $\alpha$ -talassemie possono essere suddivise nelle seguenti categorie:

- **Tratto  $\alpha$ -talassemico**: Il tratto è caratterizzato da due geni  $\alpha$  alterati. L'alterazione genetica può avvenire sullo stesso cromosoma (tratto  $\alpha$ -talassemico tipo cis) o su ciascuna coppia di cromosomi (tratto  $\alpha$ -talassemico tipo trans). Il tipo cis è più comune tra le popolazioni del Sud-Est asiatico, tra i Cinesi e tra le popolazioni mediterranee, mentre il tipo trans



è più comune tra le popolazioni di origine africana. Il tratto di  $\alpha$ -talassemico causa una leggera anemia con microcitosi, eritrocitosi e ipocromia. I soggetti con tratto  $\alpha$ -talassemico non presentano particolari problemi di salute tranne una possibile leggera anemia che può essere trattata con farmaci per la carenza di ferro.

- **Malattia da emoglobina H:** La malattia è caratterizzata dall'anomalia di tre geni  $\alpha$ . Il grave squilibrio tra la sintesi della catena  $\alpha$  e la sintesi della catena  $\beta$  causa un accumulo di catene  $\beta$  all'interno degli eritrociti (RBC). Le normali catene  $\beta$  si combinano solo con le catene  $\alpha$ , ma nel caso di malattia da emoglobina H le catene  $\beta$  iniziano a combinarsi in gruppi di quattro, producendo l'emoglobina anomala chiamata emoglobina H (nel feto, le catene  $\gamma$  si combinano in gruppi di quattro per formare un'emoglobina anomala chiamata **emoglobina di Bart**). Questa variante dell'emoglobina, HbH, non funziona come una normale emoglobina ed ha un'alta affinità per l'ossigeno (l'ossigeno è segregato e non è più disponibile per cellule ed organi). I pazienti affetti da malattia da HbH presentano un'anemia stabile e persistente, che può essere accentuata dall'aumento dell'emolisi durante le infezioni virali e dall'assunzione di farmaci ossidanti, sostanze chimiche e alimenti come sulfamidici, benzene e fave. Man mano che maturano, gli eritrociti perdono la capacità di resistere allo stress ossidativo e la HbH precipita, danneggiando la membrana degli eritrociti e causando alla fine l'emolisi. I pazienti presentano un'anemia moderata, ipocromia, microcitosi e frammentazione degli eritrociti. I bambini affetti da HbH possono presentare in rari casi un'anemia grave, coelitiasi, ulcerazione della pelle e splenomegalia che richiede splenectomia. Contrariamente ai soggetti affetti da  $\beta$  talassemia, i pazienti affetti da malattia da HbH presentano raramente forme di emosiderosi.
- **Emoglobina H – Constant Spring:** La malattia ha un decorso più grave rispetto alla malattia da HbH. Questi pazienti presentano una anemia più grave con attacchi di febbre e infezioni virali che spesso richiedono trasfusioni, e sono spesso affetti da splenomegalia.
- **$\alpha$ -Talassemia maggiore (Idrope Fetale):** In questo caso, tutti e quattro i geni  $\alpha$  sono anomali. Le catene  $\gamma$  prodotte durante la vita fetale si associano in gruppi formando un'emoglobina anomala chiamata **emoglobina di Bart**. Poiché le globine  $\alpha$  sono necessarie per la sintesi dell'emoglobina fetale e dell'emoglobina adulta, il feto soffre di forte ipossia e di gravissima anemia emolitica in utero. L'anemia è talmente grave che porta alla morte del feto generalmente al terzo trimestre. La madre presenta spesso una tossiemia gravidica e può andare incontro a una emorragia postpartum. Trasfusioni in utero hanno salvato alcuni di questi bambini. Questi pazienti necessitano di trasfusioni e di un supporto medico per tutta la vita.

### **$\beta$ -Talassemia**

Le  $\beta$ -talassemie sono le condizioni risultanti dalla sintesi ridotta della catena  $\beta$ -globinica. Sono state identificate oltre 200 mutazioni del gene  $\beta$ , riscontrate in diversi gruppi etnici, e all'interno di ogni popolazione geografica ci sono mutazioni peculiari.



Le sindromi  $\beta$ -talassemiche sono molto più varie rispetto alle sindromi  $\alpha$ -talassemiche per la diversità delle mutazioni che possono generare i difetti nella catena  $\beta$ -globinica; la gravità dell'anomalia è quindi molto variabile. Contrariamente alle  $\alpha$ -talassemie, costituite per la maggior parte dalle delezioni, le  $\beta$ -talassemie sono causate per la maggior parte da mutazioni sul cromosoma 11 che interessano tutti gli aspetti della produzione della catena  $\beta$ -globinica (trascrizione, traslazione e stabilità del prodotto  $\beta$ -globina). Poiché nella  $\beta$ -talassemia le mutazioni sono numerosissime, si può avere anche una eterozigosi composta in pazienti con due geni mutanti e nessun gene  $\beta$  normale.

Nella  $\beta$ -talassemia le mutazioni si suddividono in due grandi categorie, talassemia  $\beta^0$  ( $\beta$ -zero) e talassemia  $\beta^+$  ( $\beta$ -più). La talassemia  $\beta^0$  è caratterizzata dalla presenza di un gene anomalo non espresso o, più raramente, dalla delezione di un gene. La talassemia  $\beta^+$  è caratterizzata da un'espressione ridotta, ma non assente, del gene anomalo, il che consente una certa produzione di emoglobina A anche nei casi di omozigosi. Gli eterozigoti composti per la  $\beta$ -talassemia possono avere due geni diversi di talassemia  $\beta^0$ , due geni diversi di talassemia  $\beta^+$  o un gene di talassemia  $\beta^0$  e uno  $\beta^+$ .

La  $\beta$  talassemia si può suddividere in tre categorie generali:

- **Tratto  $\beta$ -talassemico:** Questo stato è caratterizzato dall'eterozigosi di un gene deleto o mutato e un gene normalmente funzionante: si può quindi chiamare  **$\beta$ -talassemia minore**. I soggetti con questo tratto generalmente sono del tutto asintomatici. In condizioni di stress emopoietico, per esempio durante la gravidanza o infezioni intercorrenti, il paziente può diventare anemico e richiedere trasfusioni. Occasionalmente i pazienti sono affetti da splenomegalia.
- **Portatore sano:** Questo stato è caratterizzato da un gene  $\alpha$  anomalo (o tre geni  $\alpha$  normali). In questo caso i tre geni normali possono compensare quasi completamente il gene anomalo. I soggetti sono ematologicamente e clinicamente normali. E' molto difficile diagnosticare questi pazienti al di fuori del periodo neonatale e in molti casi il portatore sano viene identificato quando ha dei figli affetti da HbH o da anemia microcitica compatibile con il tratto  $\alpha$ -talassemico. Un caso insolito dello stato di portatore sano si ha quando il soggetto porta la mutazione "**Emoglobina Constant Spring**". In seguito alla mutazione del codone terminale, in questi pazienti viene sintetizzata una catena  $\alpha$  allungata. I soggetti che presentano questa variante di emoglobina hanno valori RBC normali, ma possono avere figli affetti da HbH-Constant Spring se l'altro genitore ha un tratto  $\alpha$ -talassemico. Generalmente quest'ultima forma nei bambini è clinicamente più grave rispetto alla classica malattia da HbH. Due portatori di Constant Spring possono trasmettere i loro geni ed avere un figlio affetto da Constant Spring omozigote, una condizione che ha conseguenze simili alla malattia da HbH.
- **$\beta$ -talassemia intermedia:** Questo stato si riferisce a un fenotipo clinico con diverse spiegazioni genetiche. Questi soggetti hanno una mutazione della  $\beta$ -globina omozigote o eterozigote che causa una diminuzione nella produzione della catena  $\beta$ , ma non al punto da rendere necessaria una terapia di trasfusione cronica. Rispetto ai pazienti tipici con tratto  $\beta$ -talassemico,



presentano notevoli problemi clinici come anemia, splenomegalia, ulcere alle gambe e deformità ossee. La condizione si distingue dalla  $\beta$ -talassemia maggiore in quanto il soggetto colpito non dipende dalle trasfusioni per la sopravvivenza, anche se le trasfusioni possono essere necessarie occasionalmente o possono divenire necessarie con il tempo. La gravità della  $\beta$ -talassemia intermedia varia da una condizione lieve simile al tratto  $\beta$ -talassemico, ma con un grado maggiore di anemia e splenomegalia, ad una condizione in cui la sopravvivenza senza trasfusioni è molto difficile, accompagnata da un ritardo nella crescita e da deformità ossee. In alcuni pazienti non è facile distinguere tra una talassemia intermedia piuttosto che un fenotipo di talassemia minore o maggiore. Alcuni genotipi sono compatibilmente associati alla talassemia intermedia, mentre ce ne sono altri a volte associati alla talassemia maggiore e a volte alla talassemia intermedia.

- **$\beta$ -talassemia maggiore o anemia di Cooley:** La definizione  $\beta$ -talassemia maggiore si riferisce a pazienti con omozigosi o eterozigosi composta per la  $\beta$ -talassemia, la cui sopravvivenza oltre la prima infanzia dipende dalle trasfusioni. Questi pazienti sono caratterizzati da una eritropoiesi insufficiente e da eritrociti con vita breve, e sono quindi affetti da grave anemia. Questo morbo generalmente si manifesta nel primo anno di vita, dall'età di 3 mesi in avanti. I soggetti colpiti presentano un aumento notevole dell'eritropoiesi, sia nel compartimento del midollo osseo espanso che in zone extramidollari. L'espansione del midollo osseo ematopoietico porta a deformità ossee, in particolare nel cranio e nelle ossa facciali. Il soggetto presenta ossa doloranti e fragili, soggette a fratture a causa dell'assottigliamento dell'osso corticale. L'eritropoiesi nelle zone extramidollari causa una epatomegalia e una splenomegalia gravi. A sua volta, la splenomegalia può portare ad un ipersplenismo. L'ematopoiesi inefficace e il ciclo di vita breve degli eritrociti causano una leggera itterizia e una maggiore incidenza di calcoli biliari. Gli arti appaiono atrofizzati e la crescita è insufficiente. Molti effetti collaterali della  $\beta$ -talassemia maggiore possono essere ampiamente evitati mediante la trasfusione di sangue; questa soluzione tuttavia porta a un carico eccessivo di ferro, che a sua volta può provocare danni cardiaci ed epatici e un ritardo della pubertà. In assenza di trattamenti, i bambini affetti da  $\beta^0$ -talassemia omozigote generalmente muoiono all'età di 3 o 4 anni, mentre i bambini con  $\beta^+$  omozigote possono sopravvivere fino alla fine dell'infanzia.

### **$\delta$ Talassemia**

Poiché questa anomalia genetica interessa solamente la sintesi dell'emoglobina  $A_2$ , la  $\delta$ -talassemia non ha alcun rilievo clinico. Tuttavia è importante nel contesto della diagnosi di un tratto  $\beta$ -talassemico, poiché ereditando la  $\delta$ -talassemia, in cis o in trans con la  $\beta$  talassemia, significa che l'emoglobina  $A_2$  non è elevata e che è facile sbagliare nella diagnosi dell'eterozigosi della  $\beta$ -talassemia. Sussistono sia le mutazioni  $\delta^0$  che le mutazioni  $\delta^+$ . Sia gli eterozigoti che gli omozigoti per la talassemia  $\delta^+$  presentano una percentuale ridotta di emoglobina  $A_2$ ; negli eterozigoti  $\delta^0$  HbA<sub>2</sub> è ridotta mentre negli omozigoti  $\delta^0$  HbA<sub>2</sub> è assente.

Ci sono inoltre varianti strutturali di HbA<sub>2</sub> sintetizzate lentamente, che portano ad una "emoglobinopatia talassemica". La cosiddetta  **$\delta\beta$  talassemia Corfu** è in

effetti una fenocopia della  $\delta\beta$ -talassemia causata dalla coesistenza di talassemia  $\delta^0$  e  $\beta^+$ .

### **$\delta\beta$ Talassemia**

La  $\delta\beta^0$ -talassemia è causata dalla delezione di entrambi i geni  $\delta$  e  $\beta$ , con il mantenimento dei geni  $\gamma$ . Il fenotipo eterozigote assomiglia a quello del tratto  $\beta$ -talassemico ma la percentuale di emoglobina  $A_2$  tende a ridursi a circa la metà dei livelli normali (normale +/- 2.5%), mentre l'HbF è elevata e varia dal 5 al 20% (normale < 2%). A causa dell'aumento della sintesi di HbF, gli omozigoti e gli eterozigoti composti affetti anche da grave mutazione  $\beta^+$  o  $\beta^0$  possono presentare una talassemia intermedia anziché una talassemia maggiore. Gli omozigoti per  $\delta\beta$  hanno HbF al 100%.

Sono almeno otto le mutazioni conosciute che causano la  $\delta\beta$ -talassemia. Questo tipo di talassemia si osserva in molti gruppi etnici ma in particolare sulle coste del Mediterraneo (Italia e Grecia).

Il tratto  **$\delta\beta$  talassemico della Sardegna** è di fatto una fenocopia del tratto talassemico  $\delta\beta$  ed è causato dalla trasmissione della mutazione del gene  $\beta$  che è causa comune della  $\beta^0$ -talassemia nell'area mediterranea, e della mutazione di un gene  $\gamma$  che causa una sovrapproduzione della catena  $\gamma$ .

Un'altra fenocopia è la  **$\delta\beta$ -talassemia Corfù**, causata dalla delezione del gene  $\delta$  e dalla mutazione puntiforme del gene  $\beta$ . Gli eterozigoti hanno il fenotipo del tratto  $\delta\beta$ -talassemico, mentre gli omozigoti hanno quasi un 100% di emoglobina F, tracce di emoglobina A e mancano di emoglobina  $A_2$ .

**L'Emoglobina Lepore** può essere considerata un tipo di talassemia  $\delta\beta^+$ . L'Hb Lepore è formata dalla delezione parziale di entrambi i geni  $\delta$  e  $\beta$ , che porta alla formazione di un gene di fusione  $\delta\beta$ . Questo gene di fusione codifica una variante della catena di fusione  $\delta\beta$  che viene sintetizzata molto più lentamente rispetto alla sintesi della normale catena  $\beta$ , e la variante di emoglobina prodotta è chiamata HbLepore. Poiché l'entità della delezione è variabile, ci sono diverse emoglobine chiamate Lepore: le più comuni sono HbLepore Boston, HbLepore Baltimore e HbLepore Hollandia.

L'emoglobina Lepore non è molto frequente e si riscontra in diversi gruppi etnici, tra cui Italiani (soprattutto nella zona del napoletano), Greci (in particolare Macedoni) e nelle popolazioni di origine africana (Cubani, Caraibici, Afro-Americani e Afro-Caraibici). L'Emoglobina Lepore è importante per la possibilità di interazione con l'emoglobina S e con le  $\beta$ -talassemie.

Gli omozigoti con emoglobina Lepore e gli eterozigoti composti per HbLepore e  $\beta$ -talassemia, possono avere le caratteristiche cliniche ed ematologiche della talassemia intermedia o della talassemia maggiore.

### **$\epsilon\gamma\delta\beta$ -Talassemia**

Ci sono almeno otto mutazioni che possono causare la delezione dell'intero gruppo di geni  $\beta$  o la disattivazione di tutti i geni del gruppo. Il nome corretto di tali mutazioni è talassemie  $\epsilon\gamma\delta\beta$  ma vengono più comunemente chiamate talassemie  $\gamma\delta\beta$ . Sono tutte malattie rare e riconoscibili solo nella forma eterozigote in quanto

lo stato omozigote è incompatibile con la vita. Il fenotipo assomiglia a quello del tratto beta-talassemico, ma senza l'aumento dell'emoglobina A<sub>2</sub> o F.

### **γ Talassemia**

Questo tipo di talassemia si riferisce ad una sintesi ridotta della catena γ e quindi dell'emoglobina F. Questa condizione si manifesta in particolare durante la vita intrauterina, e poiché ci sono quattro geni γ le sequele cliniche saranno probabilmente minori.

### **Diagnosi delle malattie e dei tratti talassemici**

Si può sospettare una talassemia se un soggetto mostra segni compatibili con tale malattia. In ogni caso, la diagnosi in laboratorio è comunque fondamentale per confermare la diagnosi precisa e per consentire una consulenza genetica esatta sui rischi di ricorrenza e sugli esami a cui si possono sottoporre i genitori e i soggetti affetti. Analogamente, si raccomanda lo screening per determinare lo stato del tratto per gli individui appartenenti a gruppi etnici ad alto rischio.

Per diagnosticare una malattia talassemica e/o un tratto talassemico vengono effettuati i seguenti esami:

- Esame emocromocitometrico completo (CBC)
- Cromatografia liquida ad alta risoluzione (HPLC) per quantificare l'emoglobina A<sub>2</sub> e F
- Protoporfirina libera eritrocitaria (o ferritina o altri studi dei livelli di ferro nel siero)

L'esame emocromocitometrico completo identifica i bassi livelli di emoglobina, le microcitosi e altre anomalie degli eritrociti caratteristiche per la diagnosi della talassemia.

Poiché a volte i tratti talassemici possono essere difficili da distinguere dalle carenze di ferro, gli esami per valutare i livelli di ferro sono importanti.

Cromatografia liquida ad alta risoluzione (HPLC) può aiutare ad identificare i tipi e le quantità di emoglobina prodotti dal soggetto. I risultati ottenuti con la HPLC sono generalmente nella norma per tutti i tipi di alfa talassemia. I livelli di HbA<sub>2</sub> e talvolta di HbF risultano invece elevati in caso di malattia o di tratto β-talassemico. La HPLC consente inoltre di rilevare emoglobine strutturalmente anomale che possono essere ereditate insieme a un tratto talassemico, causando la malattia talassemica (es. emoglobina E, descritta di seguito) o altri tipi di malattie emoglobiniche (es. Anemia falciforme, descritta di seguito).

A volte, oltre agli esami appena descritti, è necessario anche l'esame del DNA. Tale esame può essere effettuato per un'ulteriore conferma della diagnosi e per definire il tipo genetico esatto della talassemia.

La talassemia può essere identificata anche prima della nascita con una diagnosi prenatale. Il campionamento dei villi corionici è possibile dalla 10<sup>°</sup> settimana di gravidanza, mentre l'amniocentesi è generalmente possibile tra la 15<sup>°</sup> e 22<sup>°</sup> settimana di gravidanza.

La diagnosi delle talassemie εγδβ è possibile solamente con l'analisi molecolare e della sintesi della catena.



**Tabella 1: Genotipi e nomenclatura delle talassemie e presentazione clinica ed ematologia dei tipi principali**

Genotipo	Presentazione clinica/nomenclatura	HbA (%)	HbA <sub>2</sub> (%)	HbF (%)	Hb-Lepore (%)	Hb-H (%)	Hb- di Bart (%)	Hb-Portland (%)
$\beta^+/\beta$	$\beta$ tal minima o normale	95	3.5 – 7.0	0 – 6				
$\beta^0/\beta$	$\beta$ tal minore	95	3.5 – 7.0	0 – 6				
$\beta^+/\beta^+$	$\beta$ tal intermedia	25 - 65	1 - 4	30 – 70				
$\beta^0/\beta^0$	$\beta$ tal maggiore	0	1 – 4	> 95				
$\beta^0/\beta^+$	$\beta$ tal maggiore o intermedia	< 20	1 - 4	> 75				
$\delta\beta^0/\beta$	Normale	80 - 85	< 2.5	10 – 18				
$\delta\beta^0/\beta^+$	$\beta$ tal intermedia	0 - 50	< 2.5	45 – 95				
$\delta\beta^0/\beta^0$	$\beta$ tal intermedia	0	0	100				
Lepore/ $\beta$	Normale	80 - 85	2.0 – 2.5	1 - 13	5 – 18			
Lepore/ Lepore	$\beta$ tal intermedia	0	0	70 - 90	9 – 30			
Lepore/ $\beta^0$	$\beta$ tal maggiore o intermedia	0	2.5	90	5 - 15			
$\alpha\alpha/\alpha\alpha$	Normale	95	2 – 3.5	1.5 – 3				
$-\alpha/\alpha$	Tratto silente ( $\alpha^+$ tal)	95	2 – 3.5	1.5 – 3		tracce	0 – 3	
$-\alpha/-\alpha$ (Trans)	$\alpha$ tal minore ( $\alpha^0$ tal)	Leggermente inferiore	1.5 – 3.5	1.5 – 3		< 2	2 - 8	
$--/\alpha$ (Cis)	Malattia da HbH ( $\alpha^0/\alpha^+$ tal)	Inferiore	1 - 2	< 2		2 - 40	< 5	
$--/--$	Hb di Bart Idropisia fetale ( $\alpha^0/\alpha^0$ tal)	Assente o tracce	Assente o tracce	Assente o tracce		< 5	70 - 80	10 - 15

Fonte: "Haemoglobinopathy Diagnosis" di Barbara J. Bain, pubblicato da Blackwell Science

Nota: I dati delle percentuali di emoglobina sono approssimativi; l'ampio range riflette l'eterogeneità dei genotipi.

## **2.2. Anemia falciforme**

Il gene HbS è piuttosto diffuso e raggiunge la massima incidenza nell'Africa equatoriale, ma è presente anche in alcune zone della Sicilia e dell'Italia meridionale, nel Nord della Grecia, nella Turchia meridionale, in Medio Oriente, in Arabia Saudita, in particolare nella provincia orientale, e in gran parte dell'India centrale. Il gene, stabilitosi in queste popolazioni presumibilmente per la sua espressione nello stato eterozigote (**tratto falciforme**, Hb anomala inferiore al 50%) proteggerebbe il paziente dalle conseguenze cliniche del plasmodium falciparum (o un altro tipo di plasmodio che causa la malaria). Il tratto falciforme è quindi molto più frequente nelle zone soggette a malaria. Purtroppo però lo stato omozigote produce l'**anemia falciforme** (Hb anomala superiore al 50%), un'anemia emolitica cronica che porta ad una condizione vaso-occlusiva letale per il soggetto colpito. L'Anemia falciforme è l'emoglobinopatia sintomatica più comune al mondo.



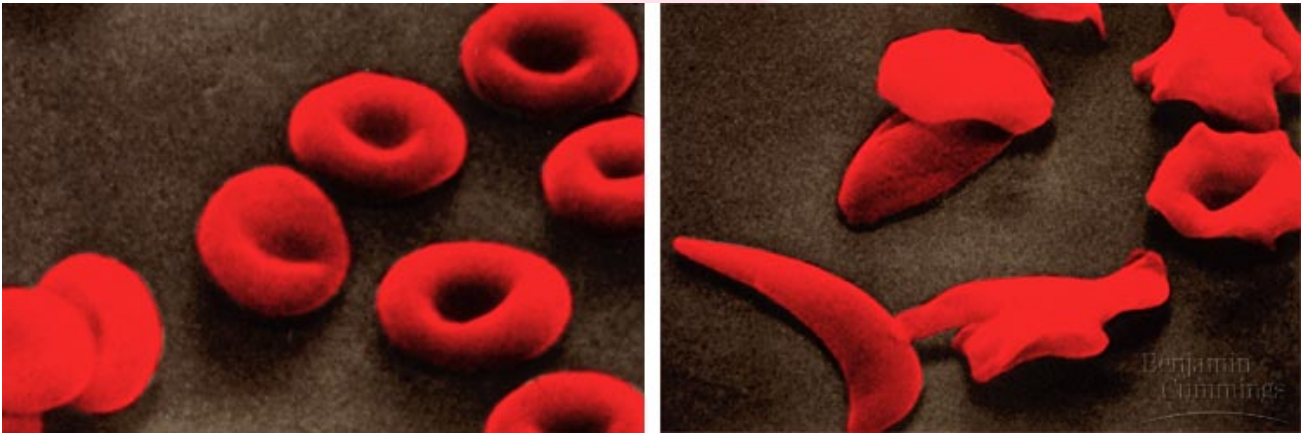
**L'Emoglobina falciforme (HbS)** è un difetto strutturale dell'emoglobina in cui la sostituzione di un tratto di DNA nella catena  $\beta$ -Hb ( $\beta^6$  A3 = catena  $\beta$ , relativamente al 6° aminoacido nella posizione A3 dell'elica) porta all'alterazione del codice genetico per l'emoglobina. Questa modifica cambia la carica elettrica e il comportamento delle molecole di emoglobina, influenzandone la solubilità, la funzione e/o la stabilità. L'emoglobina S ha la particolare caratteristica di esprimere la propria instabilità biochimica aggregandosi in lunghi assetti microtubolari chiamati **tactoidi**. Gli eritrociti contenenti HbS si stendono intorno ai tactoidi formando le caratteristiche cellule allungate e appuntite, leggermente ricurve, chiamate appunto "**falciformi**". Solo le forme deossigenate di HbS (deossi-HbS; quando l'ossigeno è stato ceduto) formano questi tactoidi. Le cellule falciformi possono bloccare i capillari e causare infarti e reazioni infiammatorie locali, ma possono anche emolizzare causando una anemia cronica. Le cellule possono tornare alla loro forma normale con la reossigenazione dell'emoglobina, ma questi eventi ripetuti causano modifiche irreversibili alle membrane (rendendo gli eritrociti rigidi e difettosi), fino alla rimozione mediante fagocitosi nella milza, nel fegato e nel midollo. Gruppi di cellule nella milza, nelle dita e nella testa del femore possono causare infarti nel tessuto. Più eritrociti si ammassano e rilasciano ossigeno più aumentano le dimensioni dell'occlusione.

I primi segni compaiono intorno al 6° mese di età e si manifestano come segue:

<u><b>Malattia acuta (Infezioni e...)</b></u>	<u><b>Malattia cronica (Anemia, ritardi nella crescita e...)</b></u>
Trombosi cerebrale	Problemi agli occhi
Sindrome acuta al torace	Ipertensione polmonare
Sequestrazione splenica	Insufficienza cardiaca congestizia
Ematuria (Infarto del rene)	Atrofia splenica
Sindrome alle mani o ai piedi (Ischemia)	Ipostenuria (difettosa attitudine del rene a concentrare l'urina)
Sindrome acuta nel quadrante superiore destro	Ulcere alle caviglie

Le crisi vaso-occlusive si verificano in seguito al blocco dei micro-vasi (dovuto magari a infezione, calo di pressione, disidratazione o flusso sanguigno lento). Tale blocco può essere accompagnato da febbre (bassa), disfunzioni degli organi e da necrosi dei tessuti. L'aumento della temperatura, l'acidosi e la disidratazione facilitano la deossigenazione dell'emoglobina. Il paziente generalmente presenta una anemia piuttosto grave dovuta all'emolisi degli eritrociti falciformi. Nel neonato, crisi ripetute nella milza causano una atrofia splenica dovuta alla necrosi causata da un ambiente ipossico ipoglicemico. Nel giovane si possono verificare infezioni batteriche fortissime. I calcoli biliari sono caratteristici di questa malattia e di ogni anemia emolitica cronica. L'ipertrofia cardiaca si verifica in seguito a cambiamenti emodinamici per compensare la carenza di ossigeno.

**Figura 2:** Illustrazione degli eritrociti normali (sinistra) e degli eritrociti falciformi (destra).



(Fonte: Internet)

### **2.3. Emoglobina C**

Anche malattia da **emoglobina C (HbC)** è causata da una mutazione strutturale della catena  $\beta$ -Hb ( $\beta^6$  A3 = catena  $\beta$ , relativamente al 6° aminoacido nella posizione A3 dell'elica, ma mutazione diversa da HbS) e causa la formazione di cristalli e l'aggregazione di molecole di emoglobina all'interno degli eritrociti. **La malattia da Emoglobina C (HbC omozigote) è caratterizzata dall'emolisi compensata, con un livello normale di emoglobina o con un'anemia leggera o moderata. Può dare fastidi addominali intermittenti, splenomegalia e leggera itterizia.**

### **2.4. Malattia da emoglobina SC**

Tra le popolazioni provenienti dall'Africa occidentale, la seconda emoglobinopatia più diffusa dopo l'Anemia falciforme è la malattia da anemia falciforme/emoglobina C (HbSC) derivante dall'eredità di un gene HbS e di un gene HbC. In soggetti eterozigoti composti per HbS e HbC, entrambe le catene  $\beta$  sono anomale: uno codifica le catene  $\beta^s$  e l'altro le catene  $\beta^c$ , quindi HbA1 è assente.

Questa malattia è grave quasi quanto la malattia da HbS omozigote. All'interno degli eritrociti la concentrazione di emoglobina aumenta e la HbC tende ad aggregarsi, potenziando la forma falciforme della HbS. I segni clinici e i sintomi sono simili a quelli dell'anemia falciforme. Alcuni pazienti possono sviluppare crisi vaso-occlusive con complicazioni, la splenomegalia è evidente e possono presentare una anemia normocitica e normocromica leggera o moderata.

### **2.5. Emoglobina D**

L'**Emoglobina D (HbD)** comprende diverse varianti non sintomatiche, tra cui **HbD<sup>Punjab</sup>**, eterozigote non falciforme. La mutazione più comune è HbD  $\beta^{121}$ .

Le forme eterozigote e omozigote sono asintomatiche. I soggetti omozigoti possono occasionalmente presentare un aumento delle cellule bersaglio e una fragilità osmotica. Quando HbD è in combinazione con il gene HbS gene talvolta, si può osservare una leggera forma falciforme degli eritrociti.

## **2.6. Emoglobina E**

**L'emoglobina E (HbE)** è la terza emoglobinopatia più diffusa al mondo e si riscontra in particolare nel Sud-Est asiatico. Questa mutazione ( $\beta^{26}$  = catena  $\beta$  relativamente al 26° aminoacido) produce una Hb E leggermente instabile con conseguente riduzione delle dimensioni degli eritrociti. Gli eterozigoti per Hb E sono asintomatici, mentre gli omozigoti (Hb EE) presentano solo una leggera anemia ipocromica microcitica con un ciclo di vita ridotto degli eritrociti. Le combinazioni di Hb E con i geni della  $\beta$ -talassemia possono invece causare gravi sintomi; La talassemia Hb E/ $\beta^0$  causa uno sviluppo carente dell'addome e dello scheletro, mentre i sintomi della talassemia Hb E/ $\beta^+$  sono molto più lievi.

## **2.7. Emoglobina O-Arab**

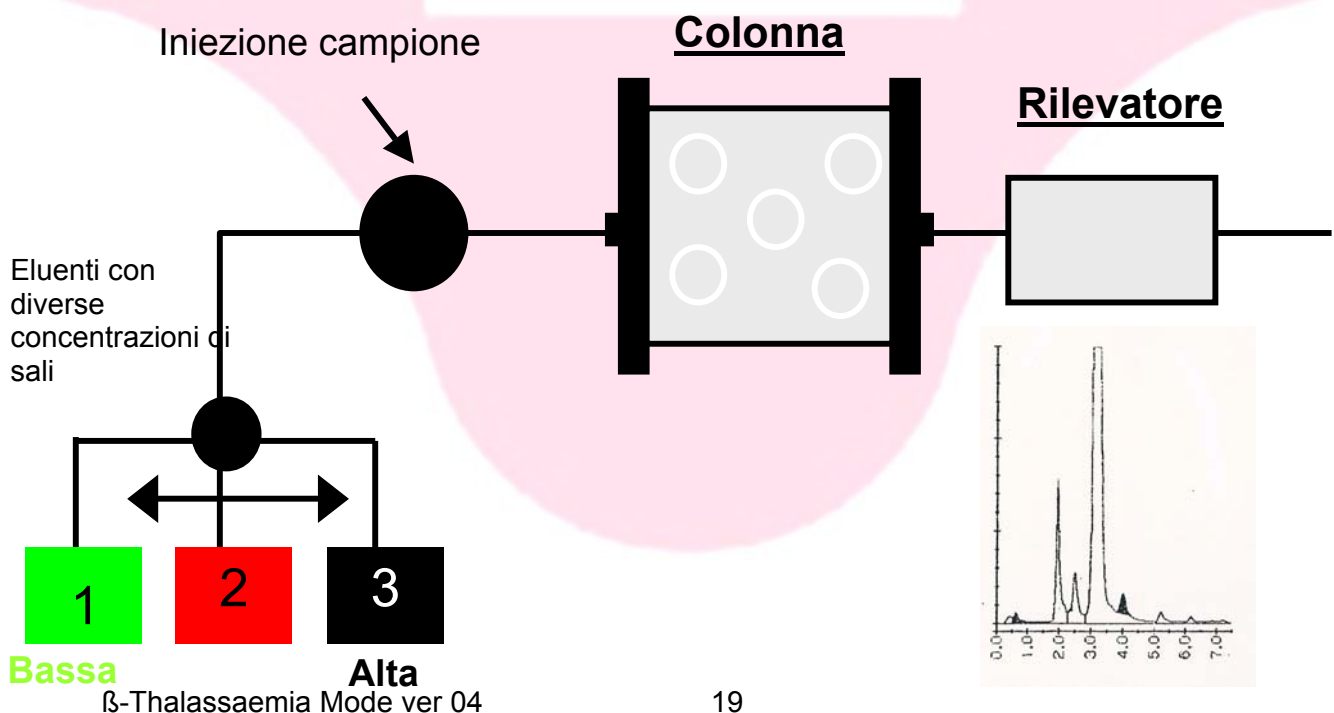
**L'Emoglobina O<sup>Arab</sup>** è un'altra variante della catena  $\beta$  ed è diffusa soprattutto nella regione balcanica e in Medio Oriente. HbO<sup>Arab</sup>, nella forma eterozigote, non ha conseguenze cliniche o ematologiche mentre la HbO<sup>Arab</sup> omozigote è associata ad una anemia leggera o moderata. Se combinata con il gene HbS tuttavia, HbO<sup>Arab</sup> è associata ad una anemia falciforme grave quanto la malattia falciforme, e i pazienti presentano un profilo clinico simile ai soggetti affetti da anemia falciforme. La talassemia HbO/ $\beta^+$  a doppia eterozigosi è associata ad una anemia microcitica relativamente grave.

### 3. Principio di separazione Tosoh G7

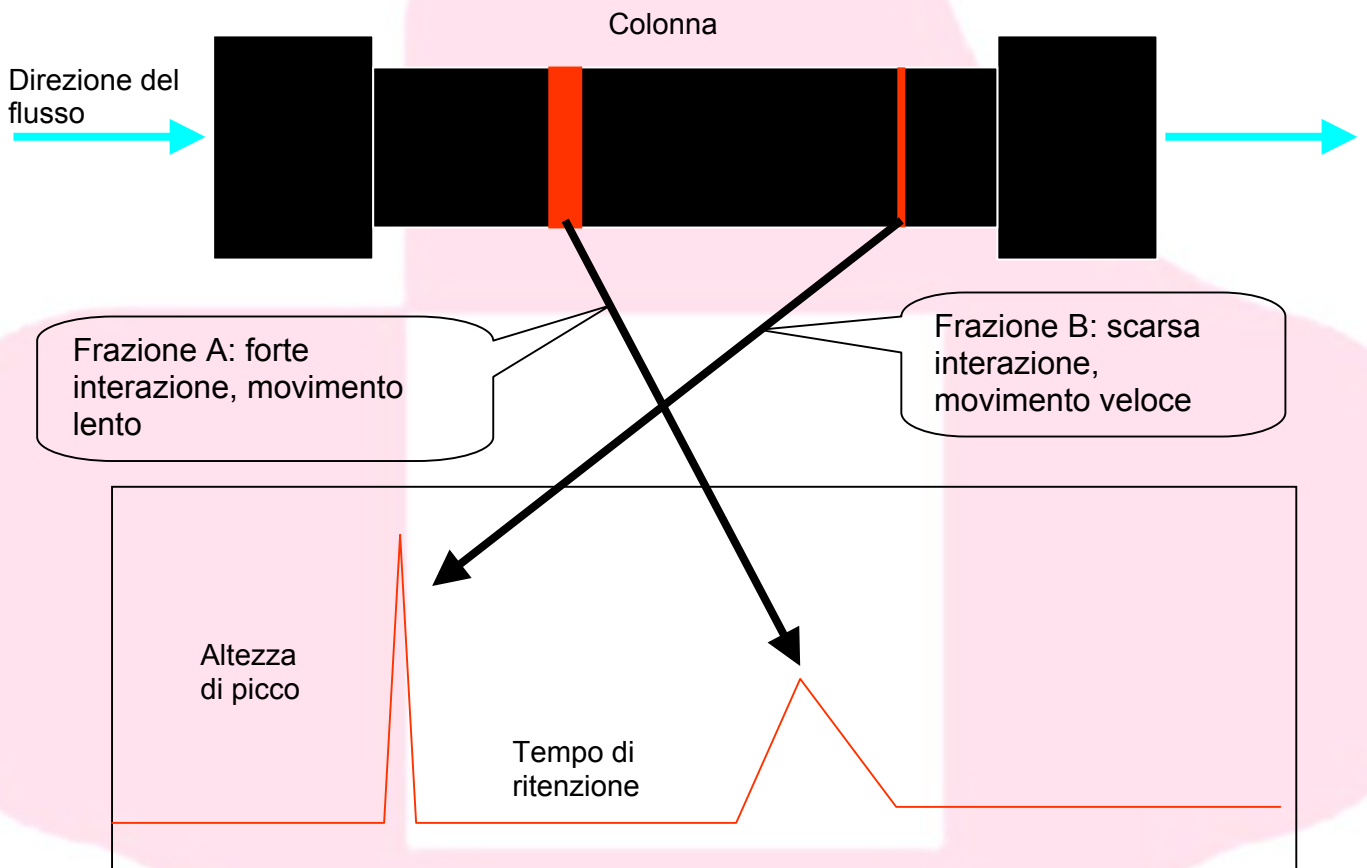
HLC-723G7 è un sistema completamente automatico strumento-reagente per cromatografia liquida ad alte prestazioni, che separa rapidamente e con precisione le emoglobine che si trovano naturalmente nel sangue. Le varie emoglobine vengono eluite in tempi diversi in base alla loro carica netta rispetto ad un gradiente di forza ionica crescente, passando attraverso una colonna a scambio cationico costituita da materiale non poroso (micro biglie brevettate a carica negativa). Nella Modalità di analisi  $\beta$ -talassemia il programma è predisposto con finestre predeterminate per rilevare la presenza di Emoglobine F, A2, A0, D+, S+ e C+. La calibrazione avviene per identificazione quantitativa di A2 e F. Tutte le altre finestre servono per l'identificazione presuntiva delle varie emoglobine.

Per l'analisi vengono aspirati 3 $\mu$ l di campione (sangue intero) che sono prima diluiti nell'apposito pozzetto con la soluzione di emolisi e lavaggio ad una diluizione di 1/200, poi, una volta emolizzati e diluiti, vengono iniettati nella valvola di iniezione e quindi sulla colonna. Nella colonna, le cariche nette delle proteine di emoglobina interagiscono con le cariche negative sulla resina non porosa all'interno della colonna. Quando inizia l'analisi, viene iniettato sulla colonna l'eluente 1, eluente con la forza ionica minore (livelli minimi di pH e di concentrazione dei sali). Questo tampone eluisce le frazioni legate debolmente come la HbF. In una seconda fase, si passa dall'eluente 1 all'eluente 2 (stesso pH dell'eluente 1, ma maggiore concentrazione di sali). Questo eluente eluisce HbA0 e HbA2. Nella terza fase l'eluente 2 passa ad un gradiente tra l'eluente 1 e l'eluente 3 (rapporto 1/1), che ha il pH maggiore e più alcalino e la maggiore concentrazione di sali. Nella quarta fase quest'ultimo gradiente passa ad un gradiente con rapporto di  $\frac{1}{4}$  tra l'eluente 1 e l'eluente 3. Nella quinta ed ultima fase, il gradiente passa al solo eluente 3 per eluire tutte le frazioni che si trovano ancora sulla colonna.

Le diverse frazioni eluite dalla colonna passano per il rilevatore prima di essere eliminate. Il rilevamento avviene mediante assorbimento con LED a due lunghezze d'onda, con lettura campione a 415nm e lettura di riferimento a 500nm.



### 3.1. Principio di separazione





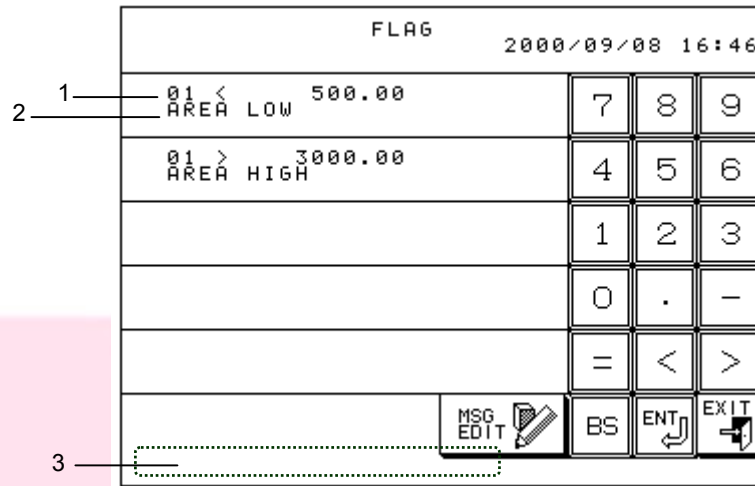
## 4. Come programmare indicatori e allarmi nel sistema.

(MENU - UTILITY - FLAG) — —



Premere il tasto **FLAG** sullo schermo STRUMENTI (UTILITY) per visualizzare lo Schermo 1.

### Schermo 1 – Schermo INDICATORI



L'analizzatore consente di controllare i risultati grazie ai parametri degli indicatori. I parametri degli indicatori permettono di impostare un allarme per diverse variabili, ad esempio per ridurre il rischio di scarsa affidabilità dei risultati a causa di un'AREA TOTALE bassa. Gli indicatori sono sempre stampati in fondo ad ogni singolo cromatogramma fuori norma. Appaiono diversi indicatori a seconda dei parametri impostati sullo schermo. Ripetere il calcolo per controllare anticipatamente i nuovi parametri dell'indicatore.

#### Contenuto del display

1. Condizioni dell'indicatore
2. Messaggio dell'indicatore quando il risultato risponde alla condizione (per visualizzare il messaggio sono disponibili al massimo 16 caratteri)
3. Visualizzazione del valore corrente inserito (codice/condizione)

#### Funzioni dei tasti



: Visualizza lo schermo di impostazione messaggi (pagina seguente)





: Conferma il valore inserito





: Visualizza lo schermo precedente


**Esempio di inserimento dati**

Prima di tutto, impostare le condizioni dell'indicatore. Premere la riga di inserimento sullo schermo (appare un asterisco). Per esempio, inserire 1<2500 e premere il tasto **ENT** . Il parametro è ora inserito.

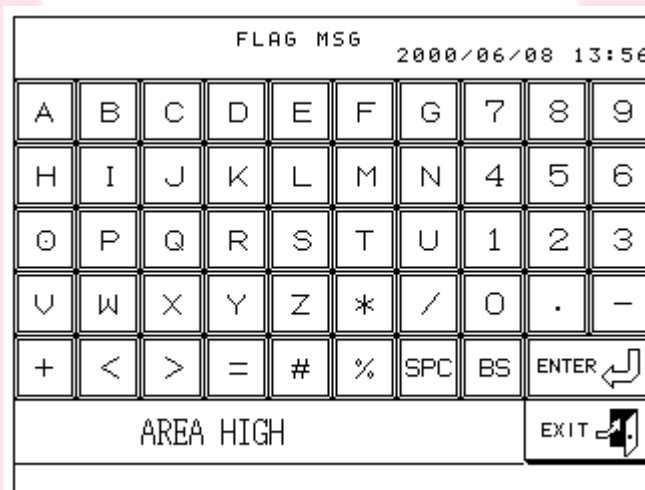
Quindi inserire il messaggio. Premere il tasto **MSG EDIT**  per visualizzare lo Schermo 2.

Digitare il messaggio che si vuole fare apparire quando il risultato risponde alle condizioni e premere il tasto **ENT** .

Verificare che il messaggio sia corretto e premere il tasto **EXIT**  per tornare allo schermo precedente.

Per cambiare i dati inseriti, selezionare la riga di inserimento e premere il tasto **MSG EDIT** .

**Schermo 2 – Ecco lo schermo che compare dopo aver premuto il tasto MSG EDIT**



**[Condizioni degli indicatori]**

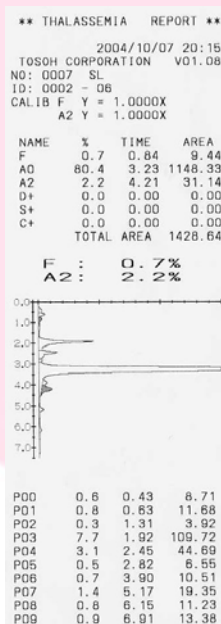
>	Risultato superiore al valore di cut-off assegnato
<	Risultato inferiore al valore di cut-off assegnato
>=	Risultato superiore o uguale al valore di cut-off assegnato
<=	Risultato inferiore o uguale al valore di cut-off assegnato
=	Risultato uguale al valore di cut-off assegnato

**[Codici indicatori (voci)]**

1	AREA TOTALE
2	
3	
4	
5	CONTEGGIO FILTRO
6	CONTEGGIO COLONNA
7	Numero di piatto teorico
8	
9	
10	

**Punto**

1. L'inserimento iniziale è impostato a 01<500 AREA LOW e 01>2500 AREA HIGH.
2. Aggiungendo al codice +10 (11, 12, 13...), l'analizzatore controlla gli errori dell'indicatore solo quando viene azionato il calibratore.
3. Il numero di piatto teorico è un indice relativo all'efficienza della colonna e viene usato per determinare la durata di vita della colonna. L'indicatore non è attivo durante RECALC (ripetizione del calcolo).
4. Per cancellare la condizione di un indicatore, selezionare la riga che si intende cancellare e inserire 0 = 0.
5. Quando uno stesso campione risponde a 2 o più condizioni degli indicatori, tutti gli indicatori interessati vengono stampati sul rapporto. Tuttavia solo il messaggio sulla riga finale verrà emesso nella LISTA trasmissione dati.

**Figura 4-3 – Esempio di stampa**


## **Guida all'Interpretazione e Library Cromatogrammi**

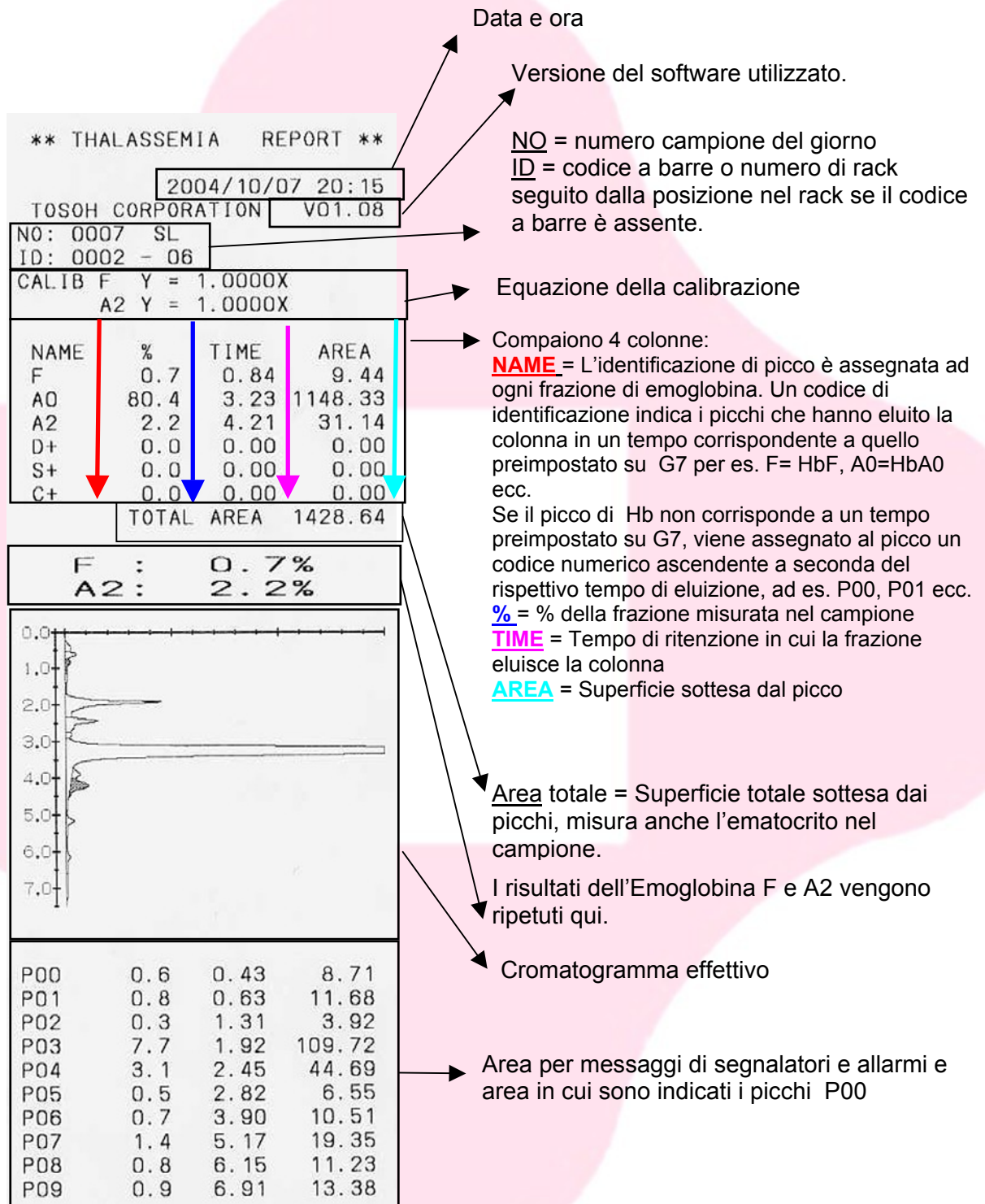
Le pagine che seguono contengono esempi di varianti note dell'emoglobina presenti su Tosoh G7 in modalità di analisi  $\beta$ -Talassemia. Questi cromatogrammi sono preceduti da altri cromatogrammi, che indicano le informazioni presenti e quali dovrebbero essere i valori normali per un numero di variabili.

I cromatogrammi insieme all'esame emocromocitometrico completo del paziente sono necessari per l'interpretazione dei risultati.

**Nota 1:** la modalità  $\beta$ -Talassemia è una tecnica di screening. L'identificazione della variante positiva è possibile solo con l'analisi del DNA.

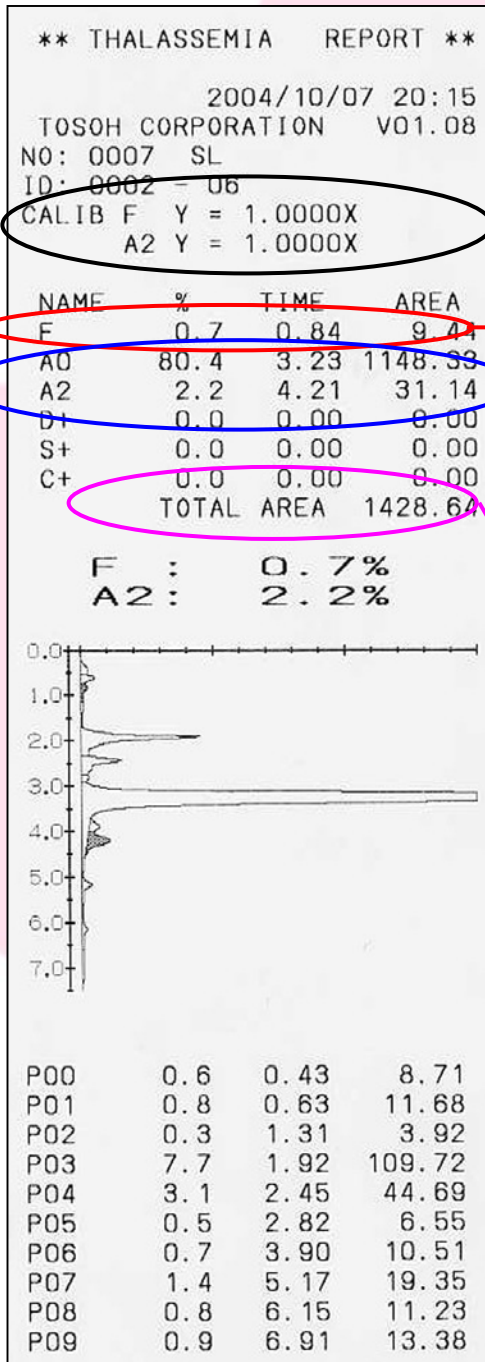
**Nota 2:** Tutti i campioni indicati di seguito sono stati positivamente identificati come la variante citata.

## Quali informazioni dà il cromatogramma?





## Quali sono i valori normali?

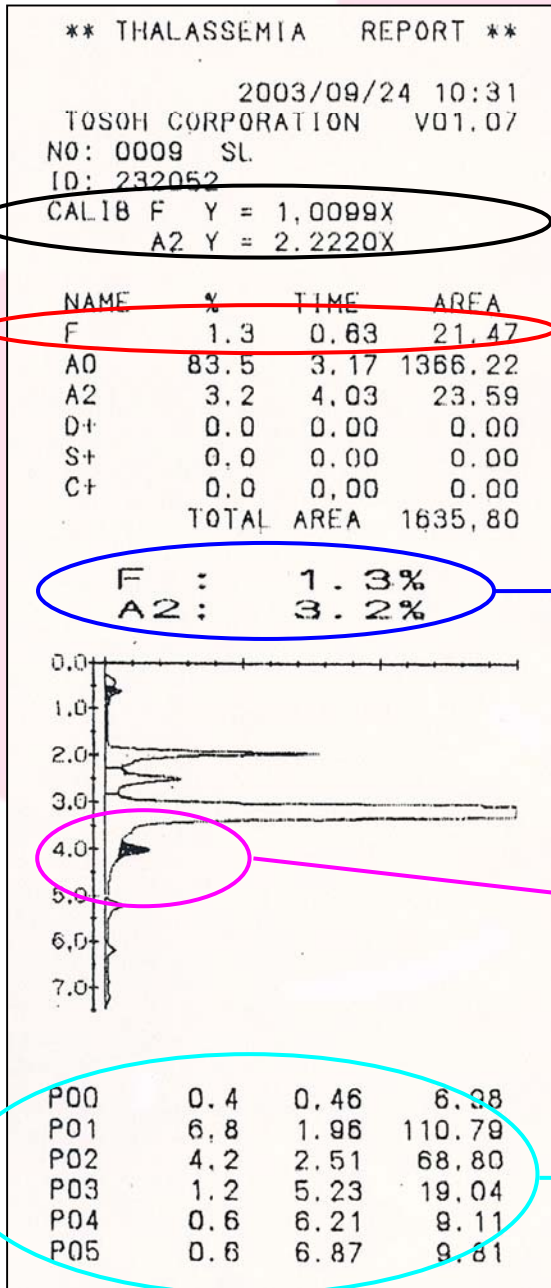


Fattori della calibrazione:  
Per HbF: il fattore deve essere vicino a 1  
Per HbA2: Il fattore ottimale deve essere < 2.0

Quando il tempo di ritenzione per HbF è intorno a 0.9, il valore riportato da G7 per HbF può essere indicato come risultato del paziente.

Il tempo di ritenzione deve essere:  
Per A0: tra 3.05 e 3.35  
Per A2: tra 3.85 e 4.55

L'area totale deve essere compresa tra 500 e 2500



Quando il fattore di calibrazione per A2 supera 2, la procedura ufficiale Tosoh prevede la predisposizione (priming) della colonna. (Vedi alla fine del manuale)

Quando il tempo di ritenzione per HbF è <0.8, il valore riportato da G7 per HbF risulta falsamente aumentato. Il valore dichiarabile per HbF è < 1%.

Valori HbA2 normali

Alla nascita: 0.2 - 0.3%  
Adulto normale: 2 - 3.5%  
Tratti Beta-talassemici: > 3.5%  
Portatori sani di Beta-talassemia: nella norma

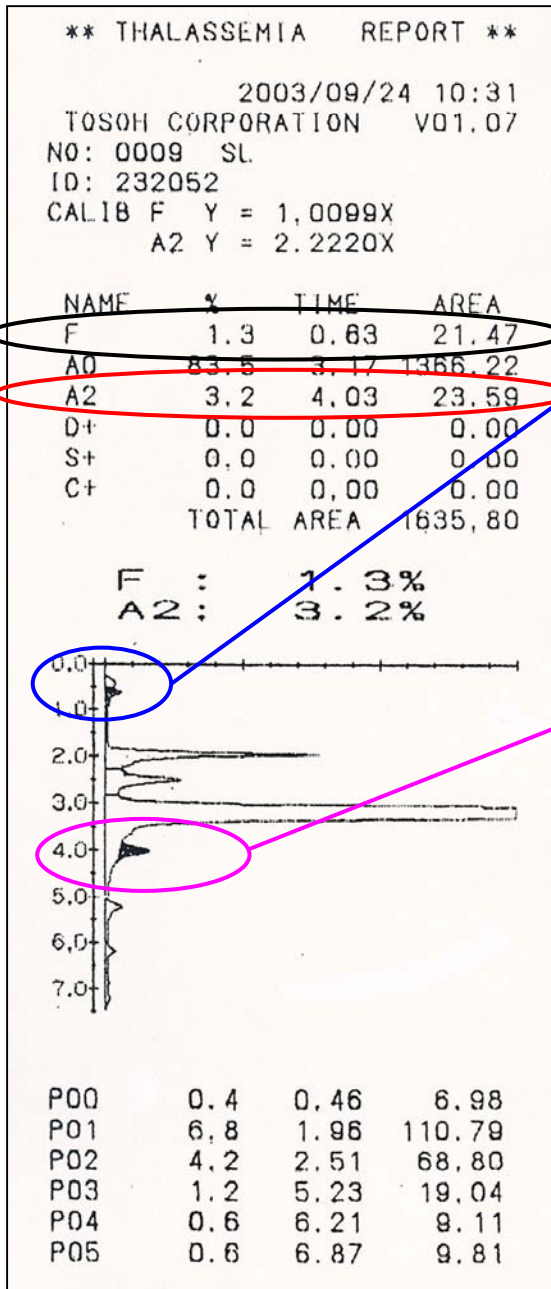
Valori HbF normali:

< 2%  
Fonte: "Haemoglobinopathy Diagnosis" di Barbara J. Bain, pubblicato da Blackwell Science

Hb A2

I picchi P00 sono frazioni di emoglobina non identificate. Tali picchi necessitano di ulteriori ricerche quando sono superiori al 10%.

## Campione normale

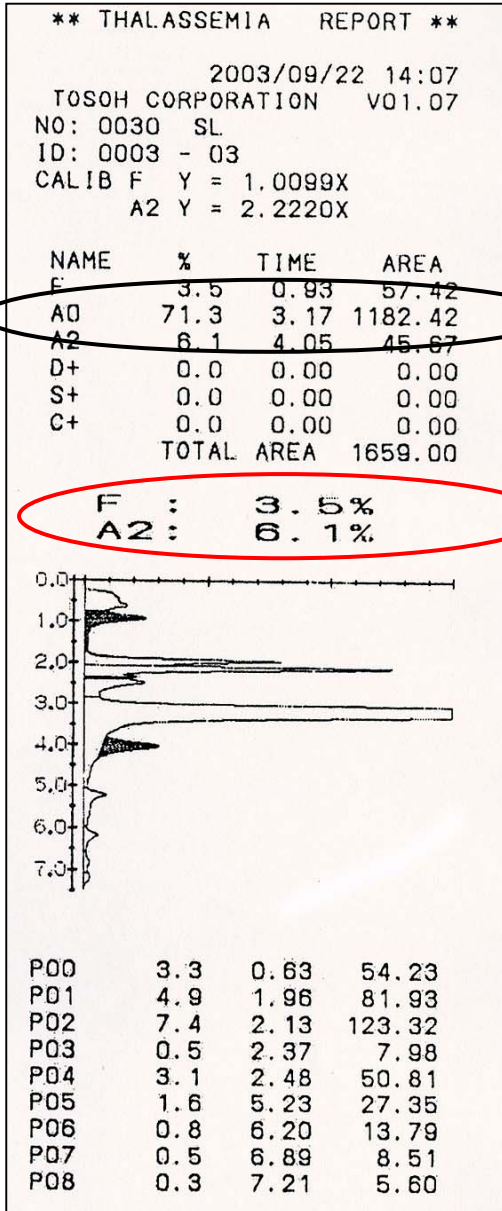


L'emoglobina F si stacca a 0.63 min, quindi il risultato dichiarabile per HbF è < 1%

L'emoglobina A2 eluisce al tempo di ritenzione giusto e viene tolta giustamente dalla spalla Hb A0

**Risultato dichiarabile per  
Hb A2  
Per HbF dichiarare < 1 %**

## Campione tratto $\beta$ -Talassemico



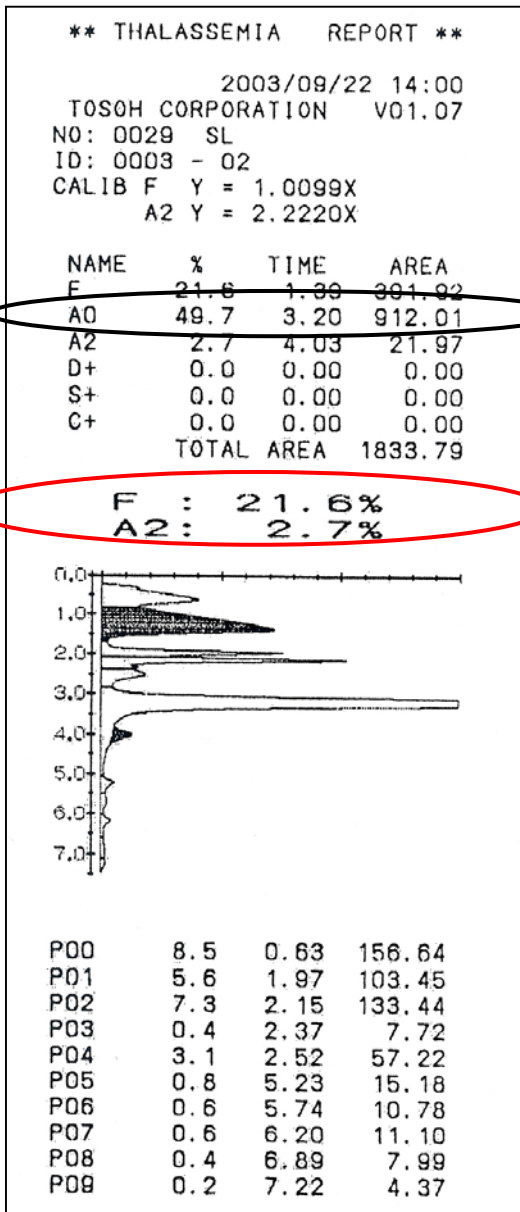
Hb A0 ridotta al 70 % circa

Hb F alta

Hb A2 > 3.5 %

**Risultato dichiarabile  
per Hb A2 e HbF**

## Campione di $\beta$ -Talassemia omozigote dopo trasfusione



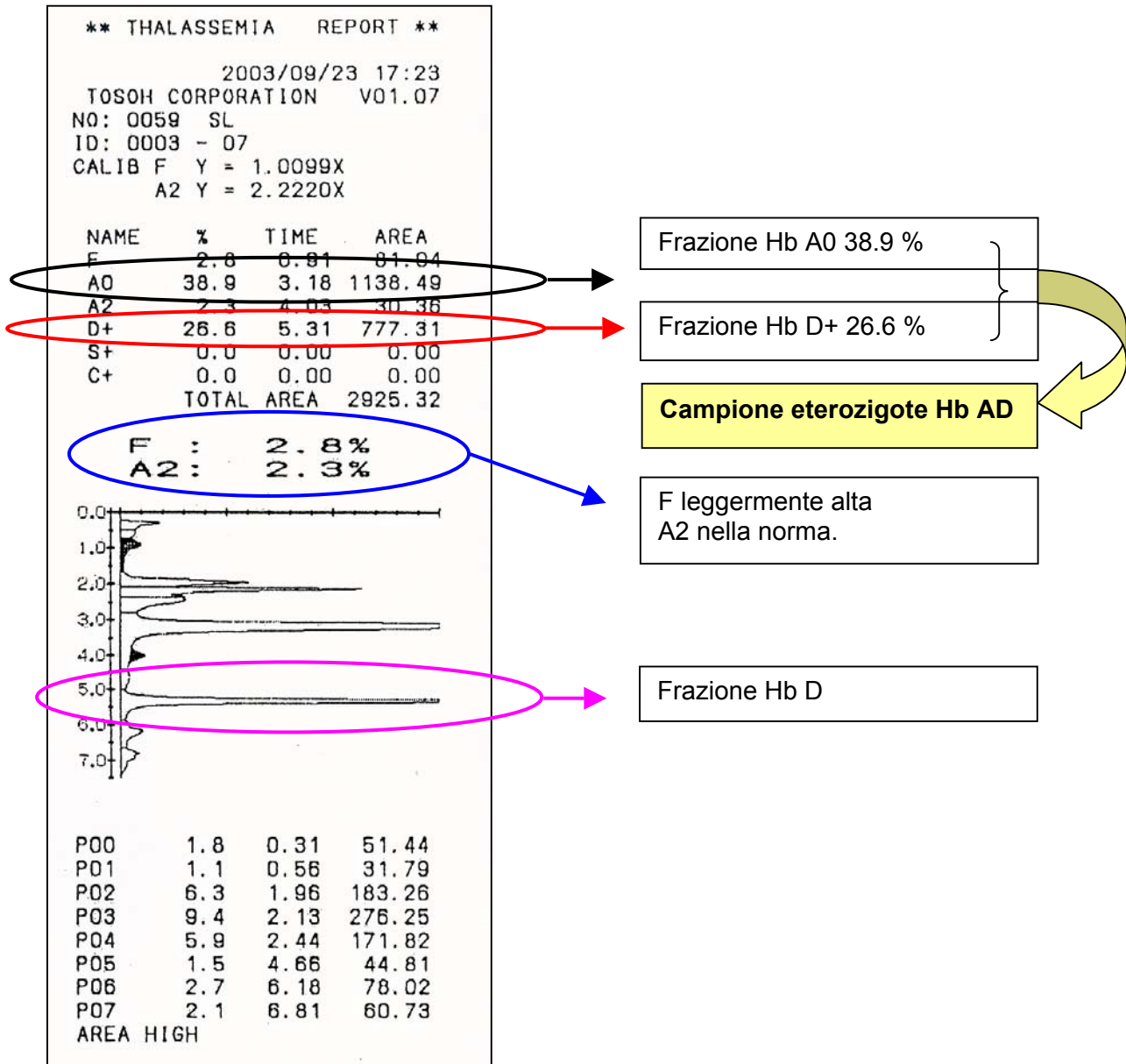
Hb A0 molto bassa  
Hb A0 del 49.7 % solamente

Hb F alta  
A2 nella norma

**Risultato dichiarabile  
per Hb A2 e Hb F**

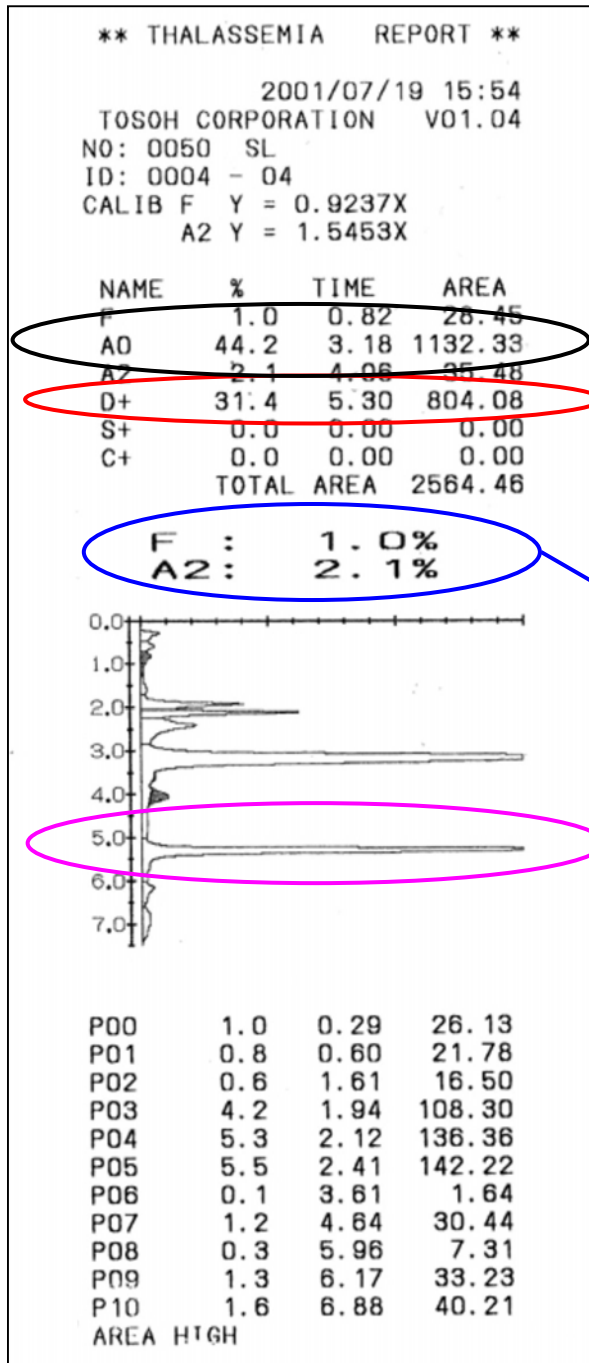


## Campione HbA/D eterozigote



**Risultato dichiarabile  
per Hb A2 e Hb F**

## Campione HbA/D Los Angeles eterozigote



Frazione Hb A0 44.2 %

Frazione Hb D-LA 31.4 %

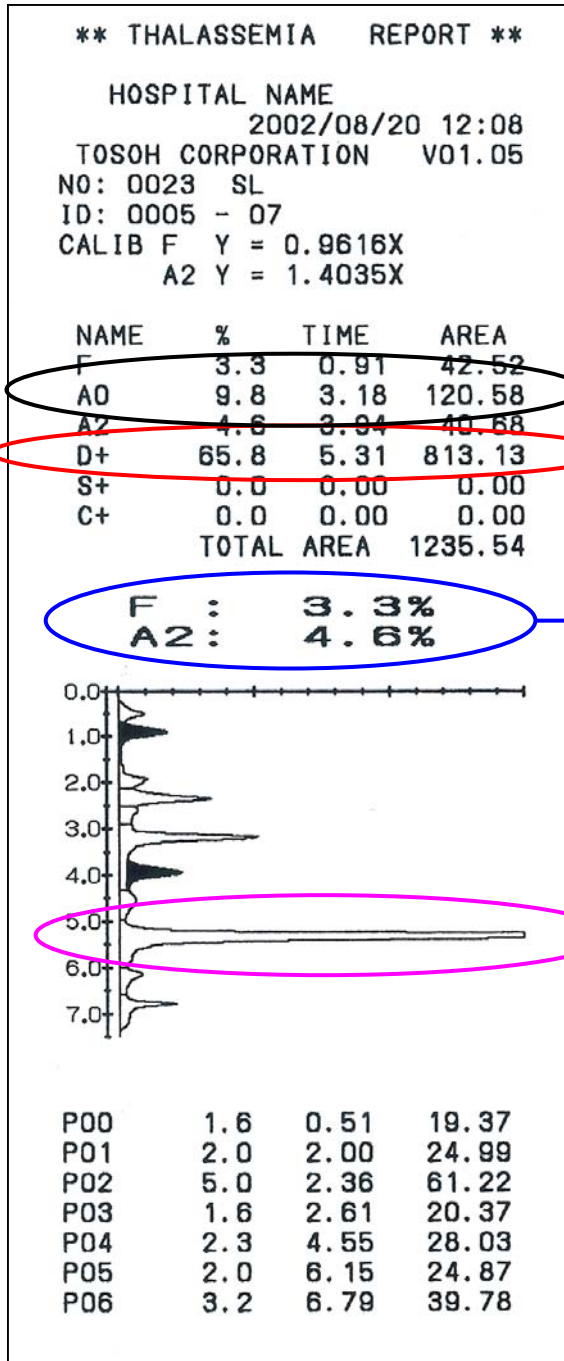
**Campione Hb A/D-Los Angeles eterozigote**

Hb F e Hb A2, entrambe nella norma

Frazione Hb D-LA

**Risultato dichiarabile per Hb A2 e HbF**

## Campione HbD/ $\beta^+$



Piccola frazione di Hb A0 ancora presente

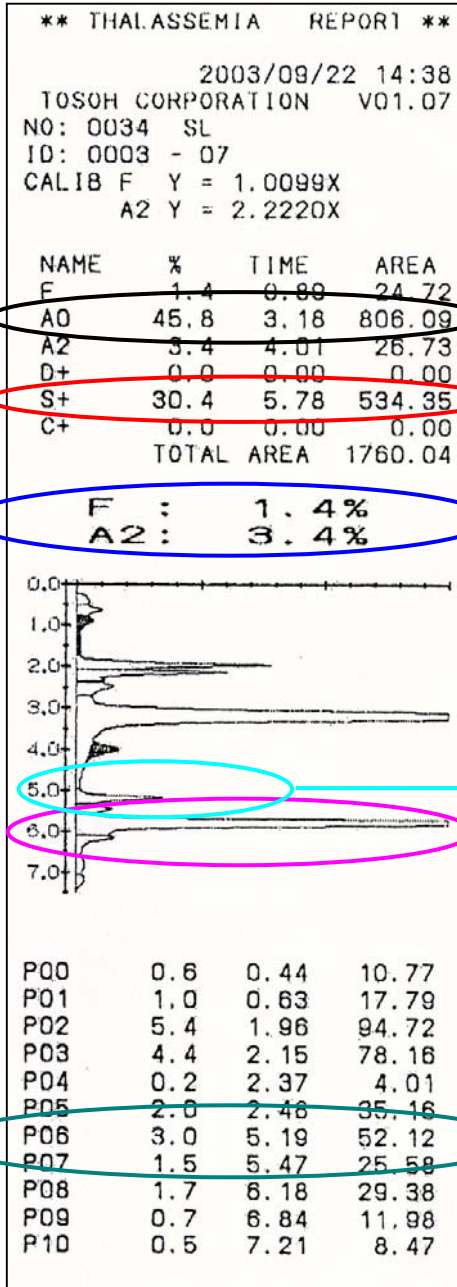
Frazione Hb D 65.8 %

HbF leggermente alta  
Hb A2 alta

Frazione Hb D

**Risultato dichiarabile  
per Hb A2 e HbF**

## Campione HbA/S eterozigote



Frazione Hb A0 45.8 %

Frazione Hb S 30.4 %

**Campione eterozigote Hb AS**

Prodotti Hb F e Hb A2 entrambi nella norma

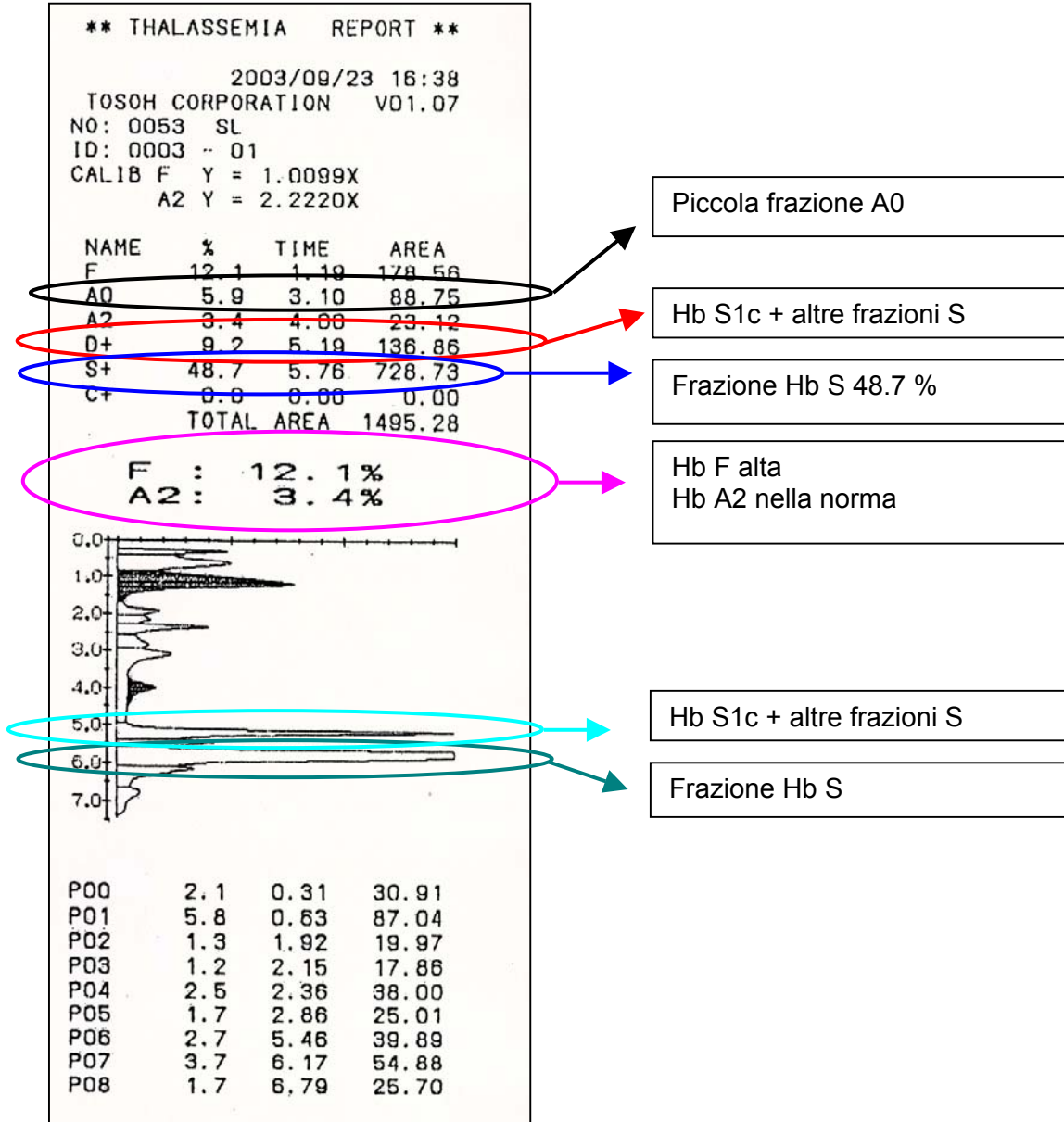
Hb S1c + altre piccole frazioni S

Frazione Hb S

Hb S1c + altre frazioni S

**Risultato dichiarabile per Hb A2 e HbF**

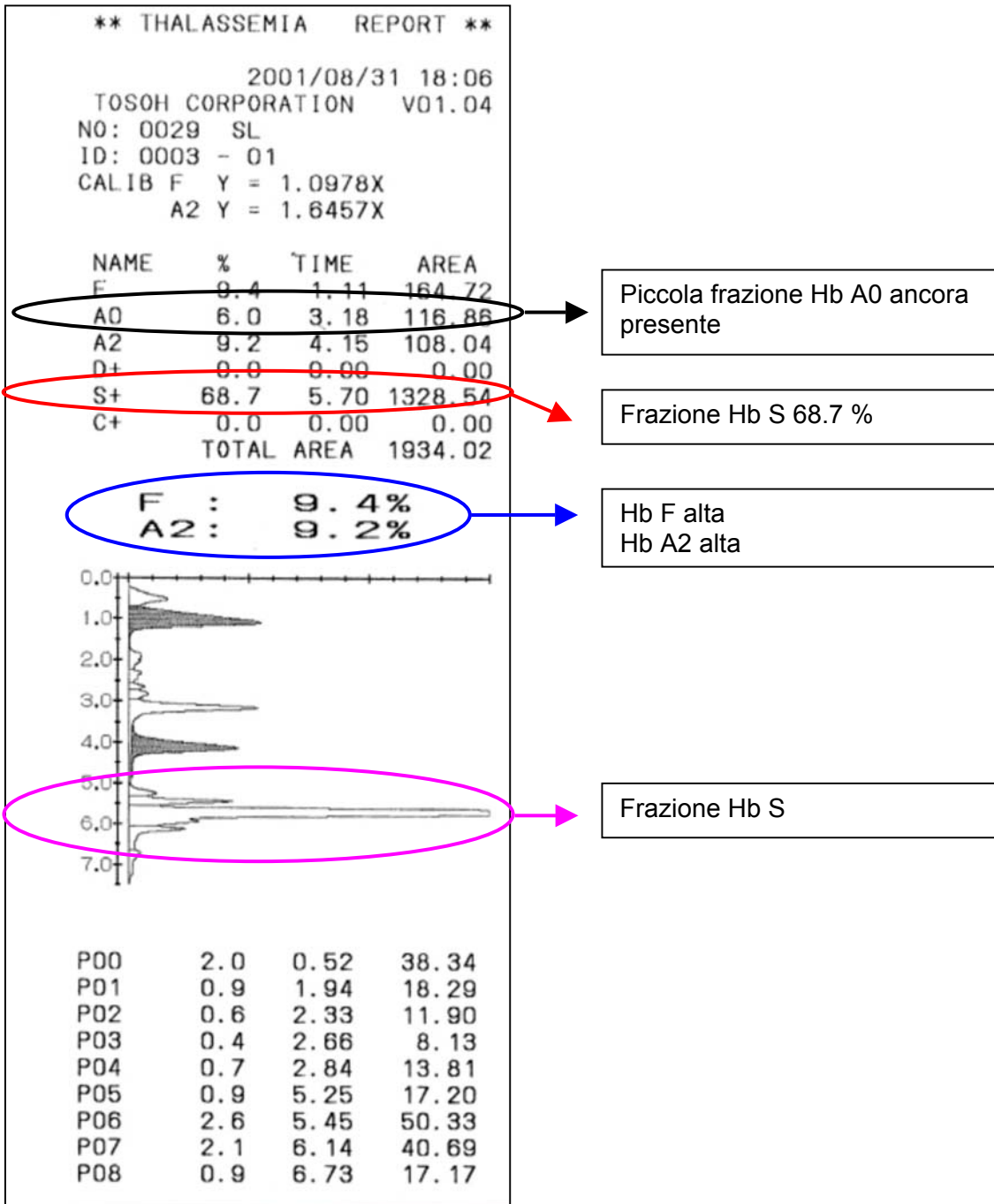
## Campione HbS/S omozigote



**Risultato dichiarabile  
per Hb A2 e HbF**

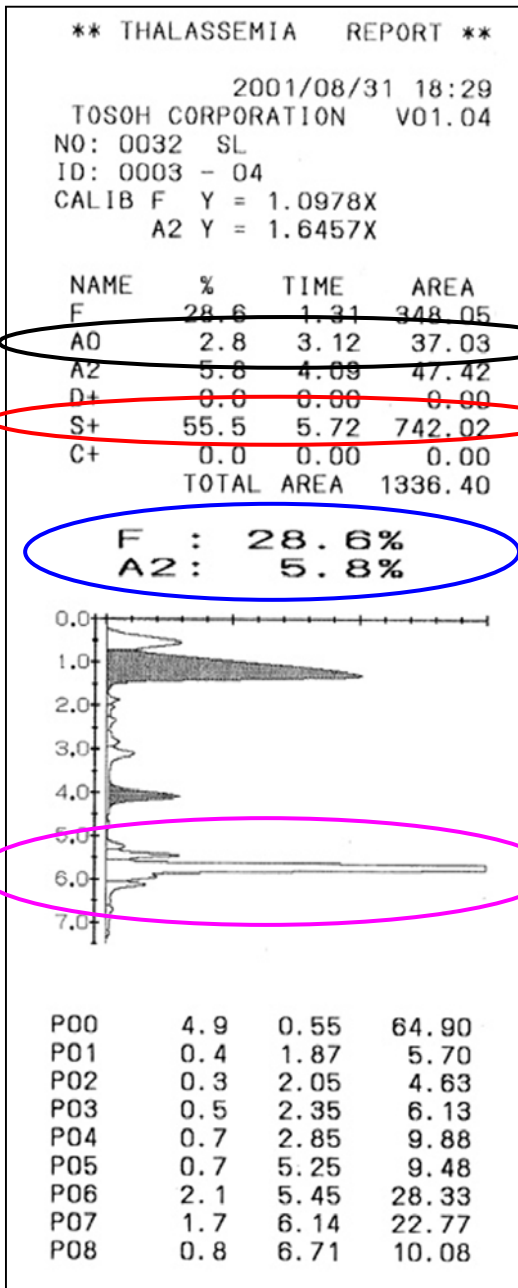


## Campione HbS/ $\beta^+$



**Il risultato HbF è dichiarabile, ma la frazione Hb A2 è falsamente alta per l'integrazione di base eccessiva**

## Campione HbS/β<sup>0</sup>



Frazione Hb A0 assente (il 3%  
è trascurabile)

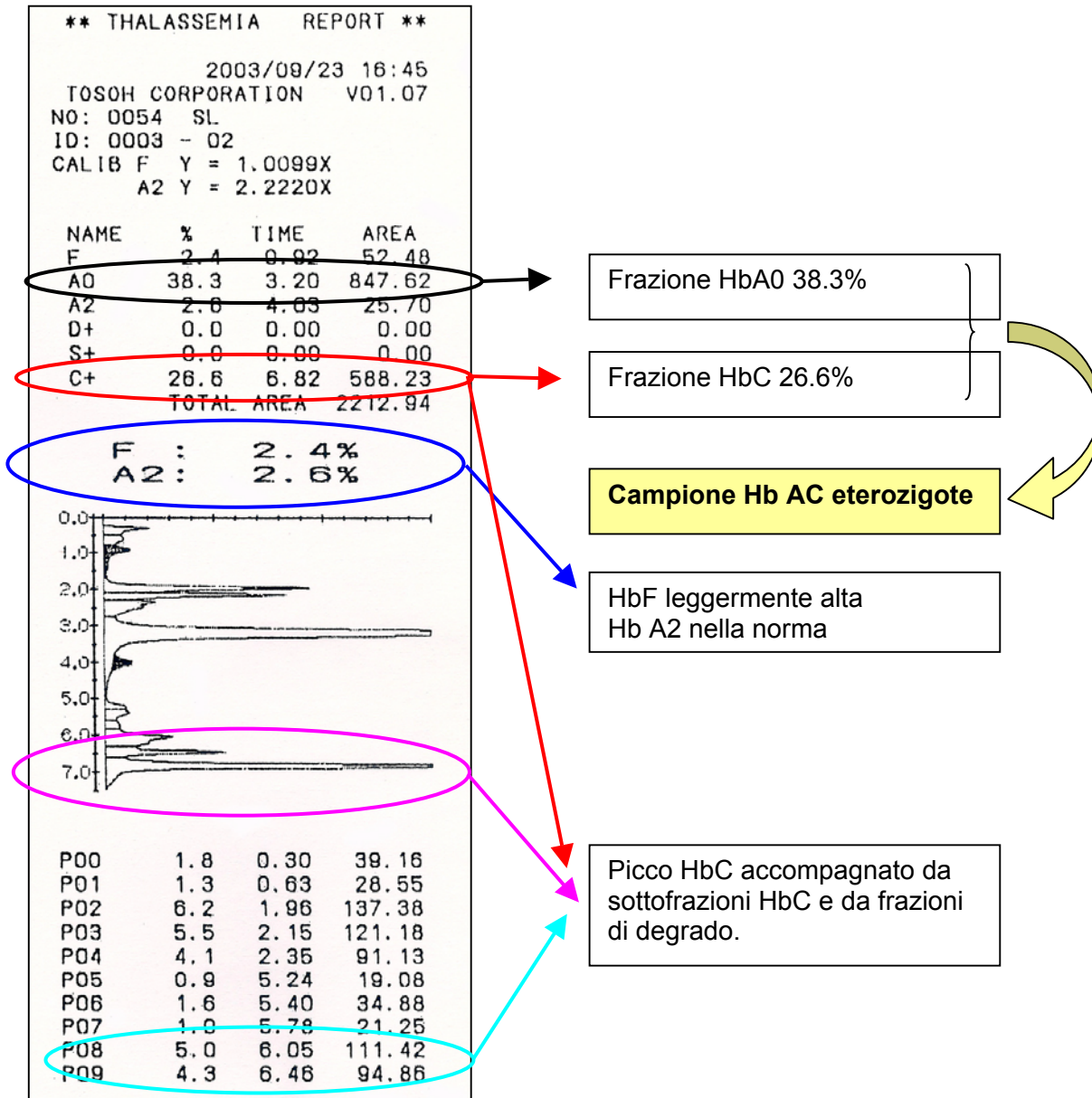
Frazione Hb S 55.5 %

Frazione HbF alta  
Frazione Hb A2 alta

Frazione Hb S

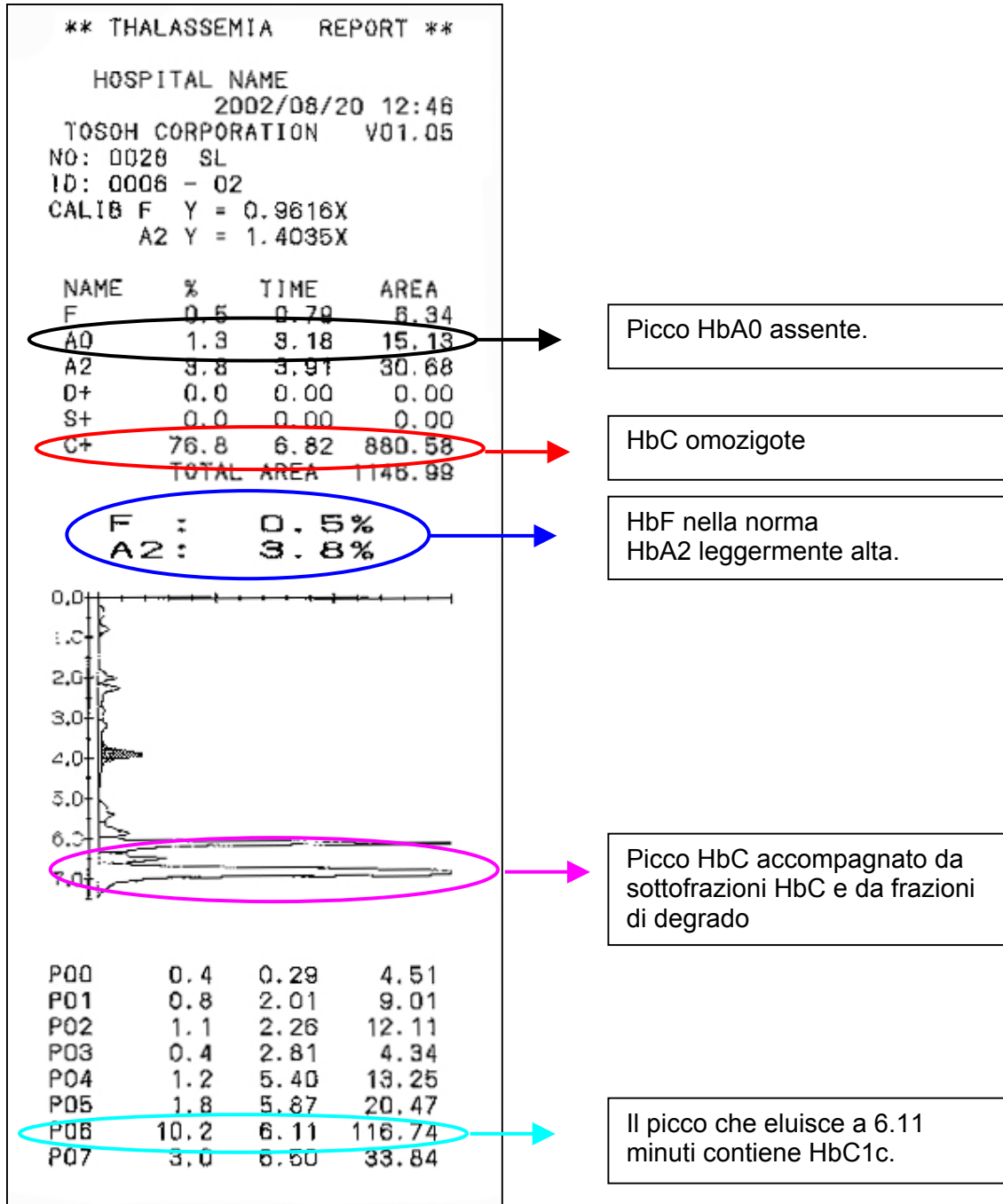
**Risultato dichiarabile  
per Hb A2 e HbF**

## Campione HbA/C eterozigote



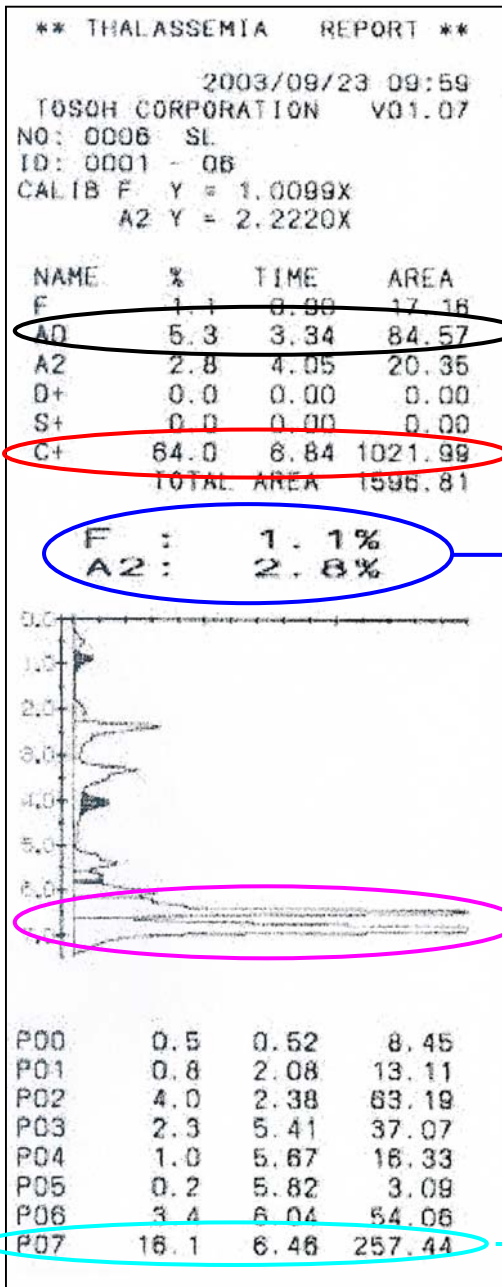
**Risultato dichiarabile  
per Hb A2 e HbF**

## Campione HbC/C omozigote (1)



**Risultato dichiarabile  
per Hb A2 e HbF**

## Campione HbC/C omozigote (2)



Picco HbA0 trascurabile.

HbC omozigote

Entrambi nella norma

Picco HbC accompagnato da sottofrazioni HbC e da frazioni di degrado

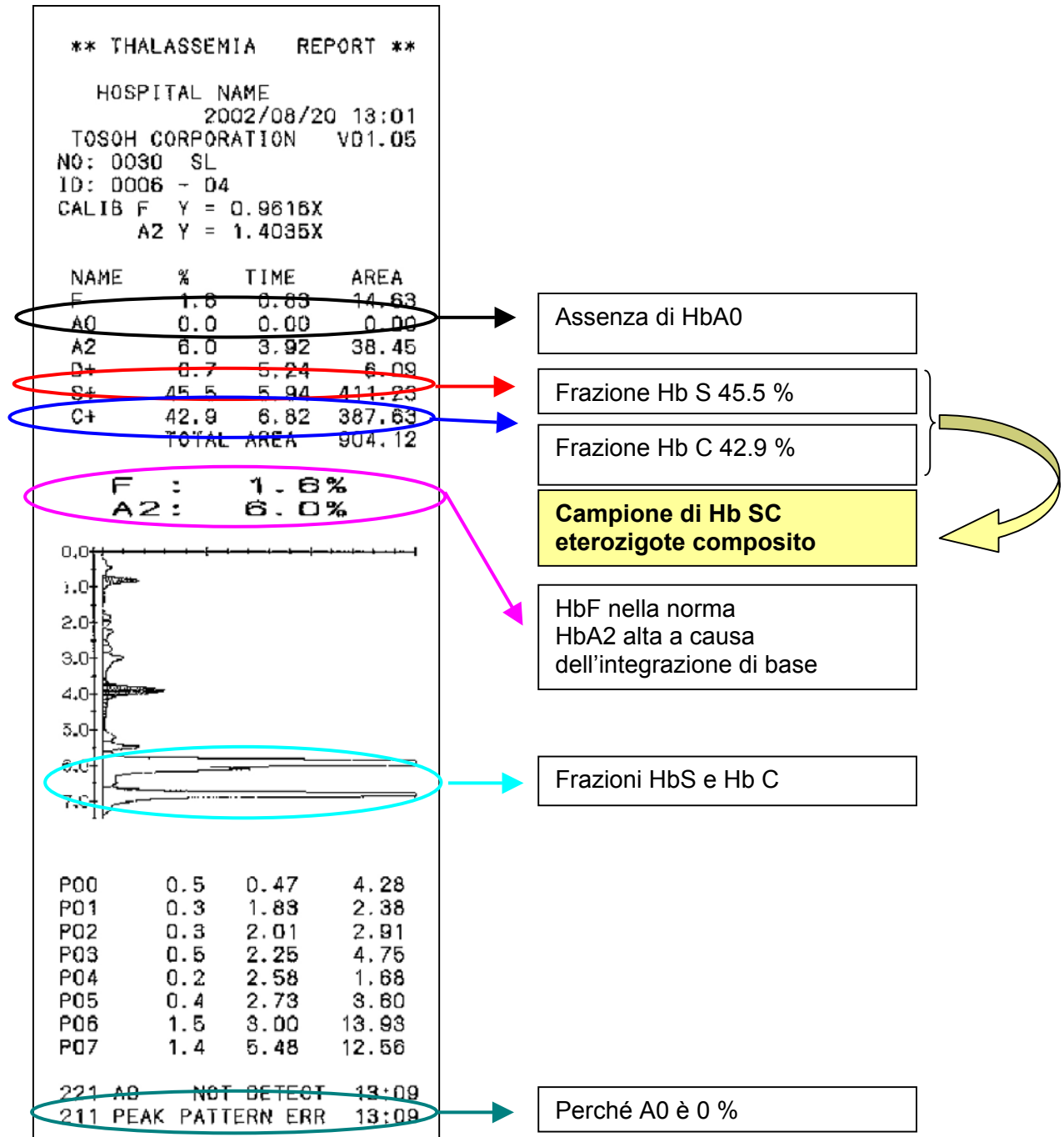
Il picco che eluisce a 6.46 minuti contiene HbC1c.

**Risultato dichiarabile  
per Hb A2 e HbF**



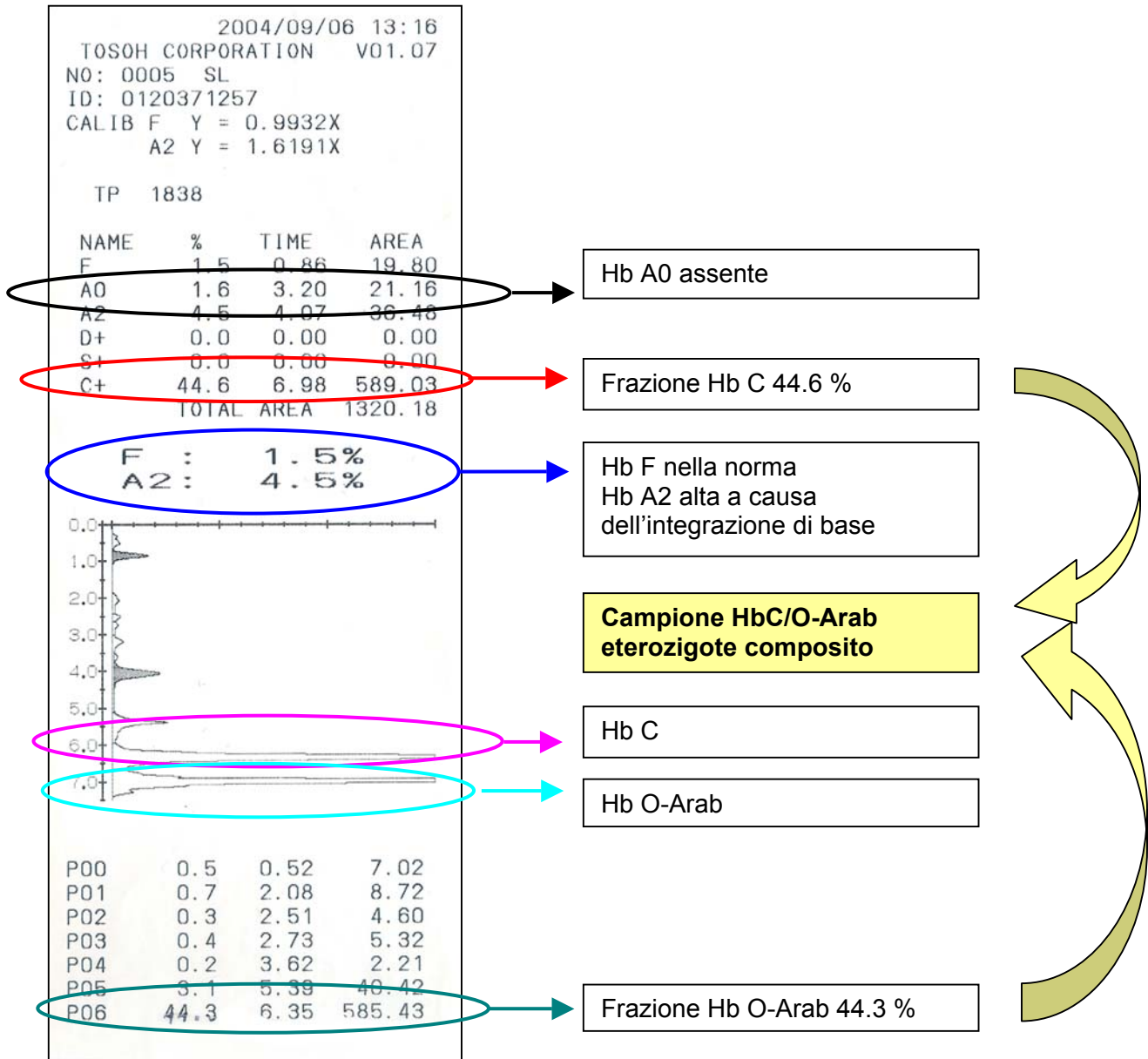


## Campione HbS/C eterozigote composito



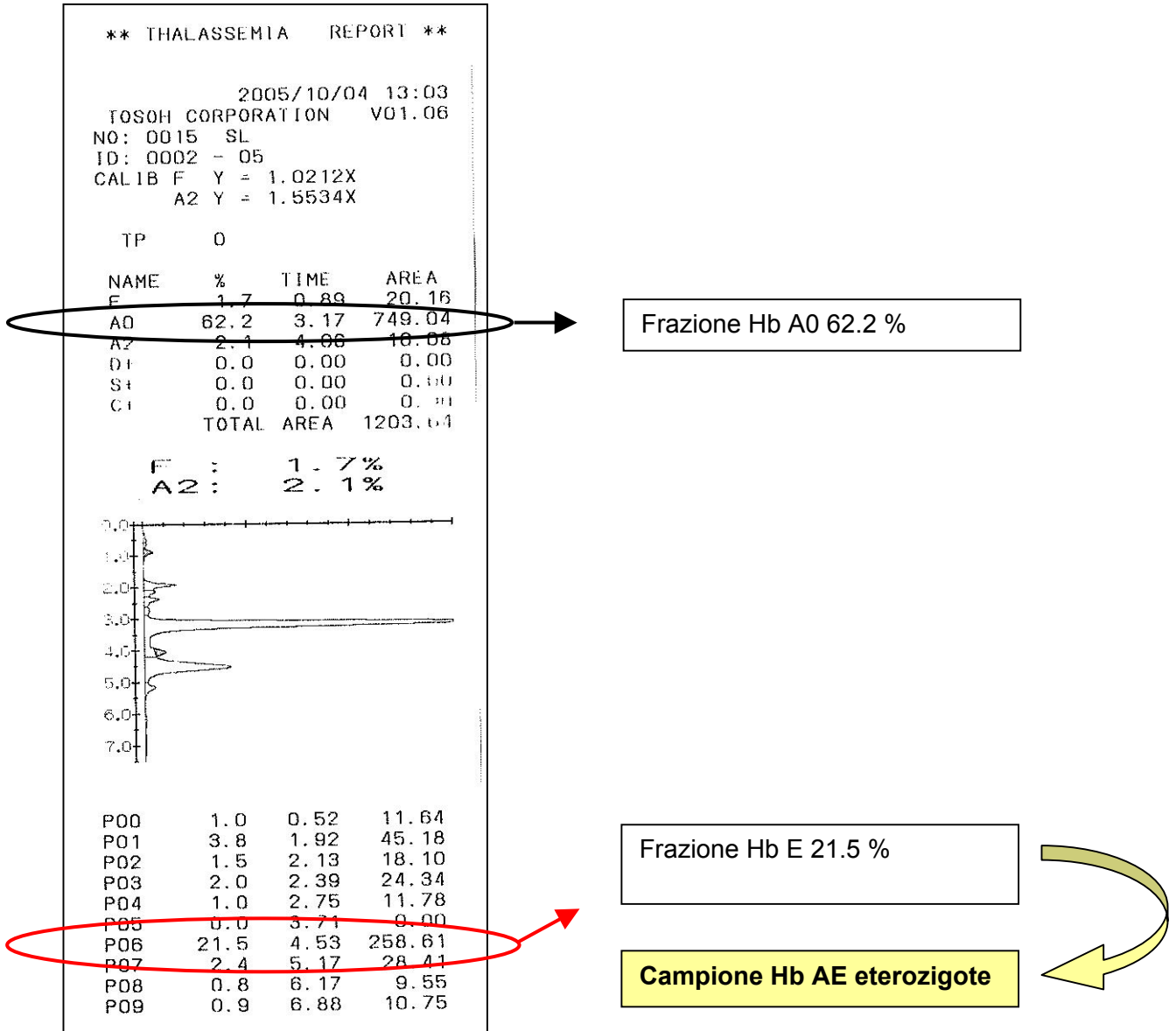
**Il risultato HbF è dichiarabile, ma la frazione Hb A2 è falsamente alta per l'integrazione di base eccessiva**

## Campione HbC/O-Arab eterozigote composito



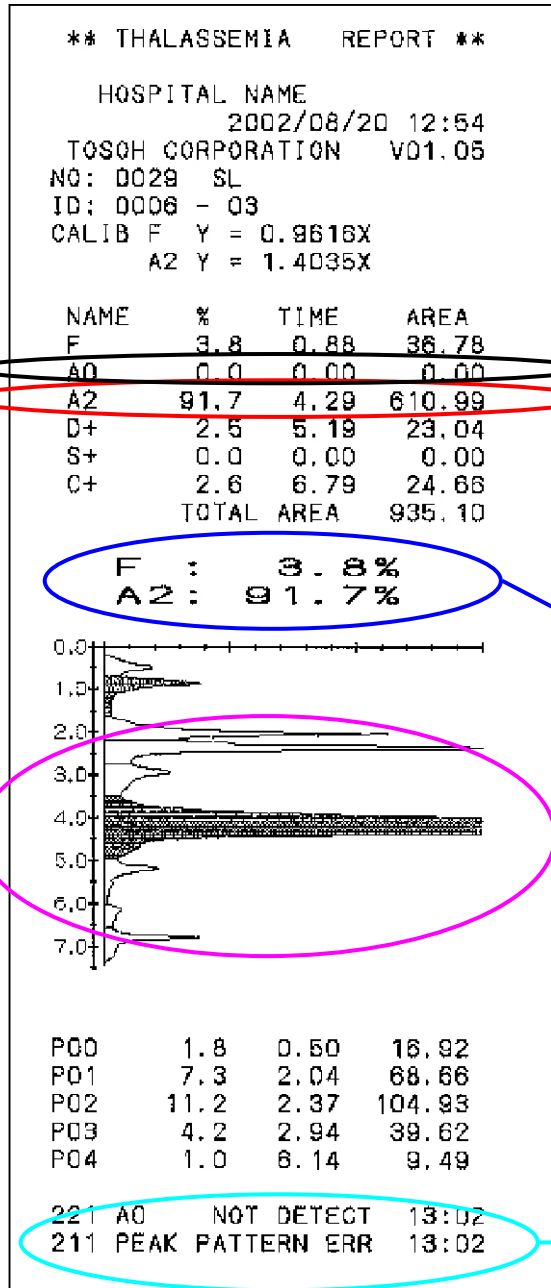
**Il risultato HbF è dichiarabile, ma la frazione Hb A2 è falsamente alta per l'integrazione di base eccessiva**

## Campione HbA/E eterozigote



**Risultato dichiarabile  
per Hb A2 e HbF**

## Campione HbE/E omozigote



Frazione Hb A0 0%

Frazione Hb E eluisce con  
frazione Hb A2 => 91.7 %

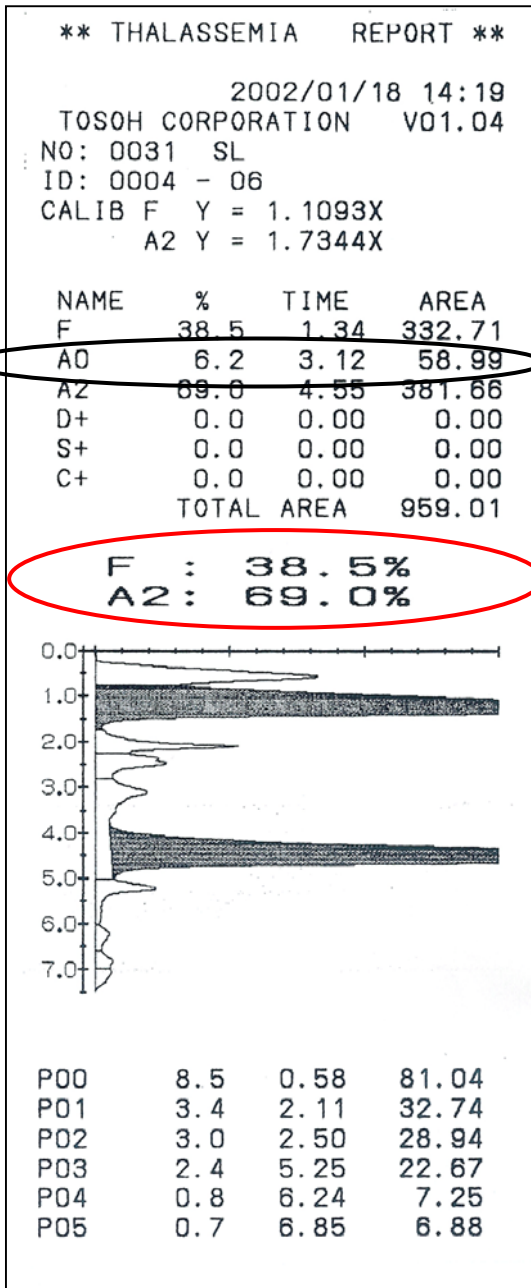
**Campione Hb EE omozigote**

HbF alta  
Hb E eluisce con Hb A2

Errore nella forma del picco e  
integrazione di base A2  
causata da Hb A0 = 0 %

**Il risultato HbF è dichiarabile  
La frazione Hb A2 è falsamente alta  
per la co-eluzione di Hb E**

## Campione HbE/ $\beta^+$



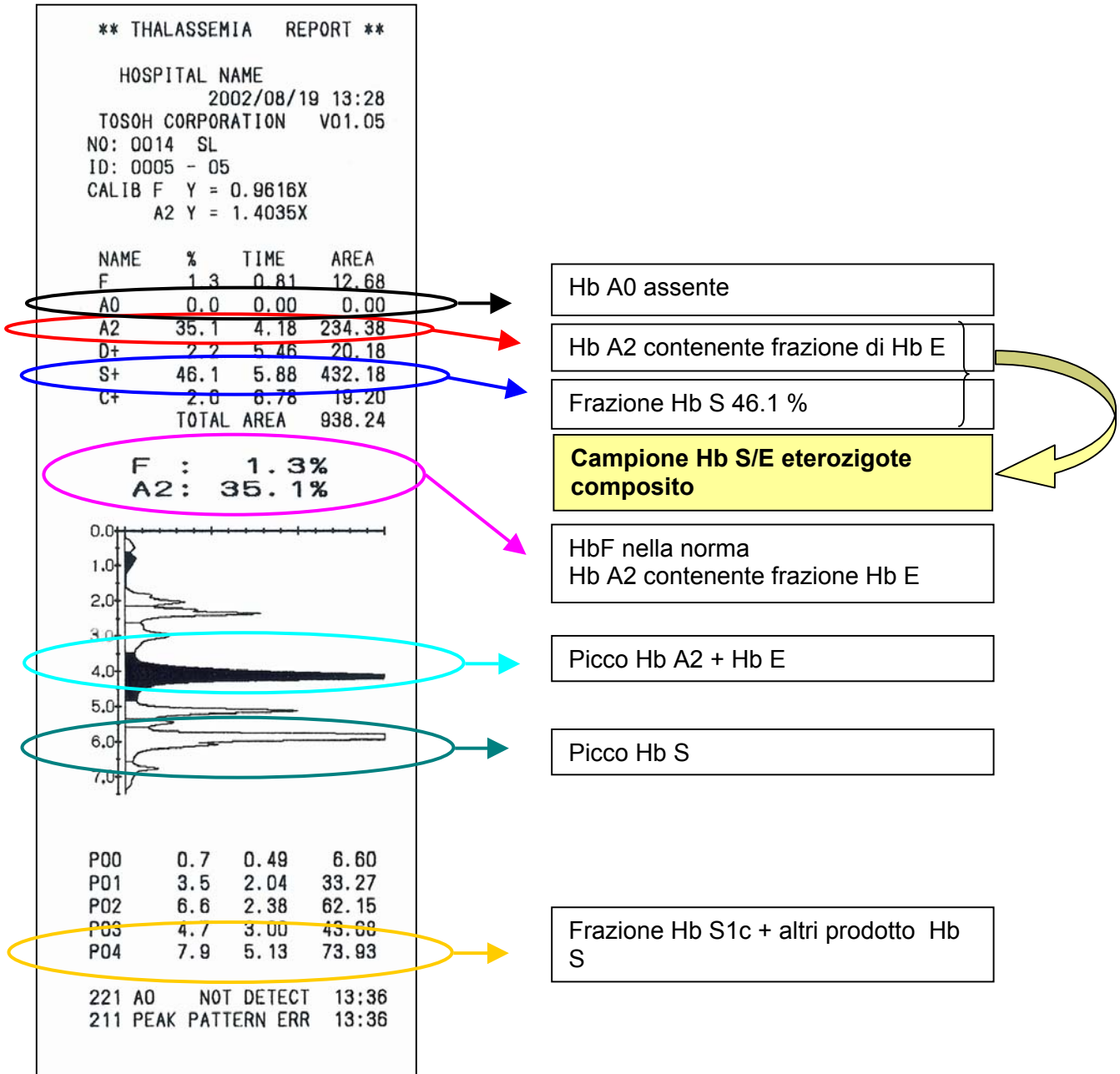
Frazione Hb A0 molto bassa

Frazione HbF molto alta  
La frazione Hb A2 contiene la frazione Hb E

**Il risultato HbF è dichiarabile  
La frazione Hb A2 è falsamente alta  
per la co-eluzione di Hb E**

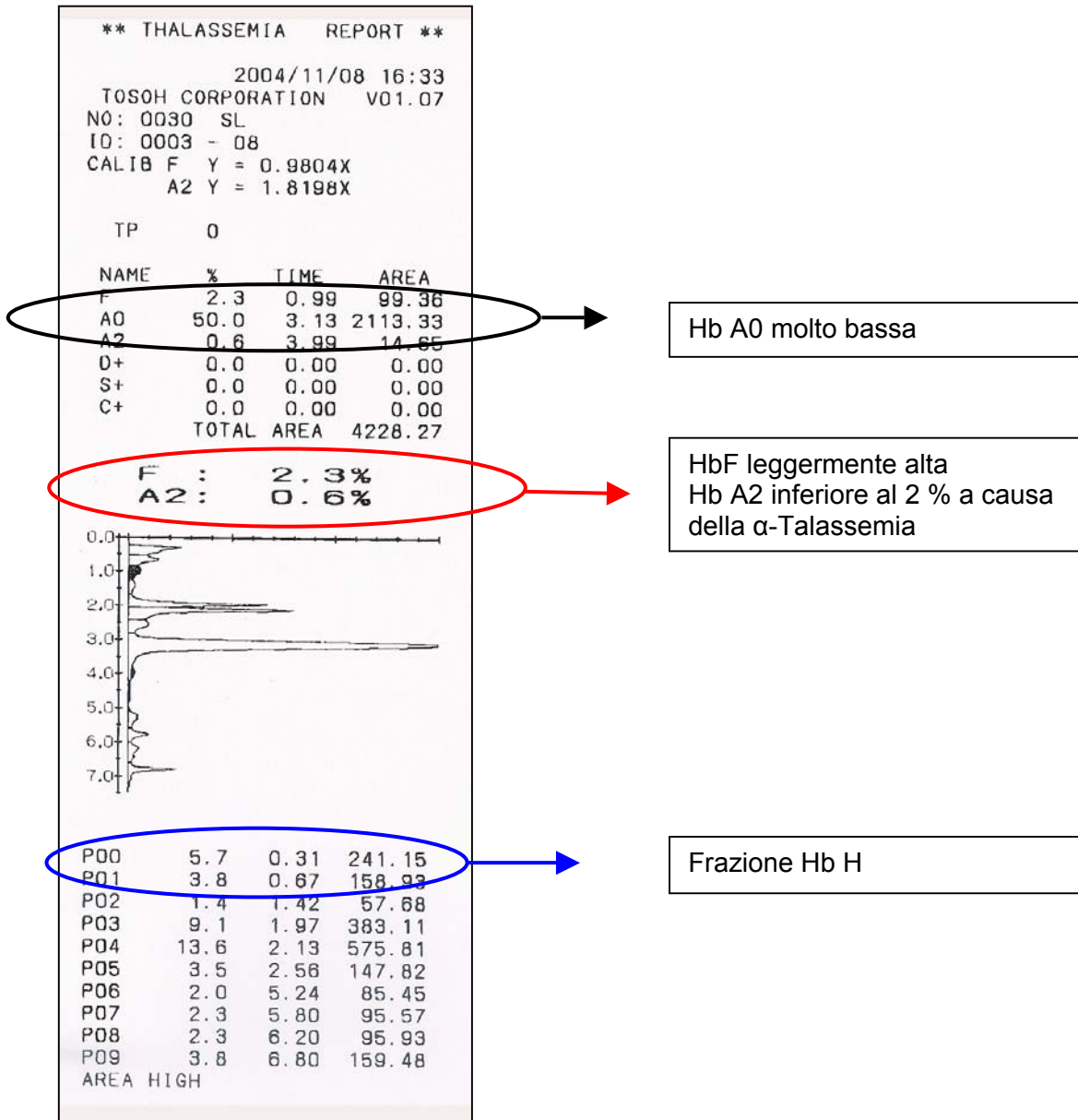


## Campione HbS/E eterozigote composito



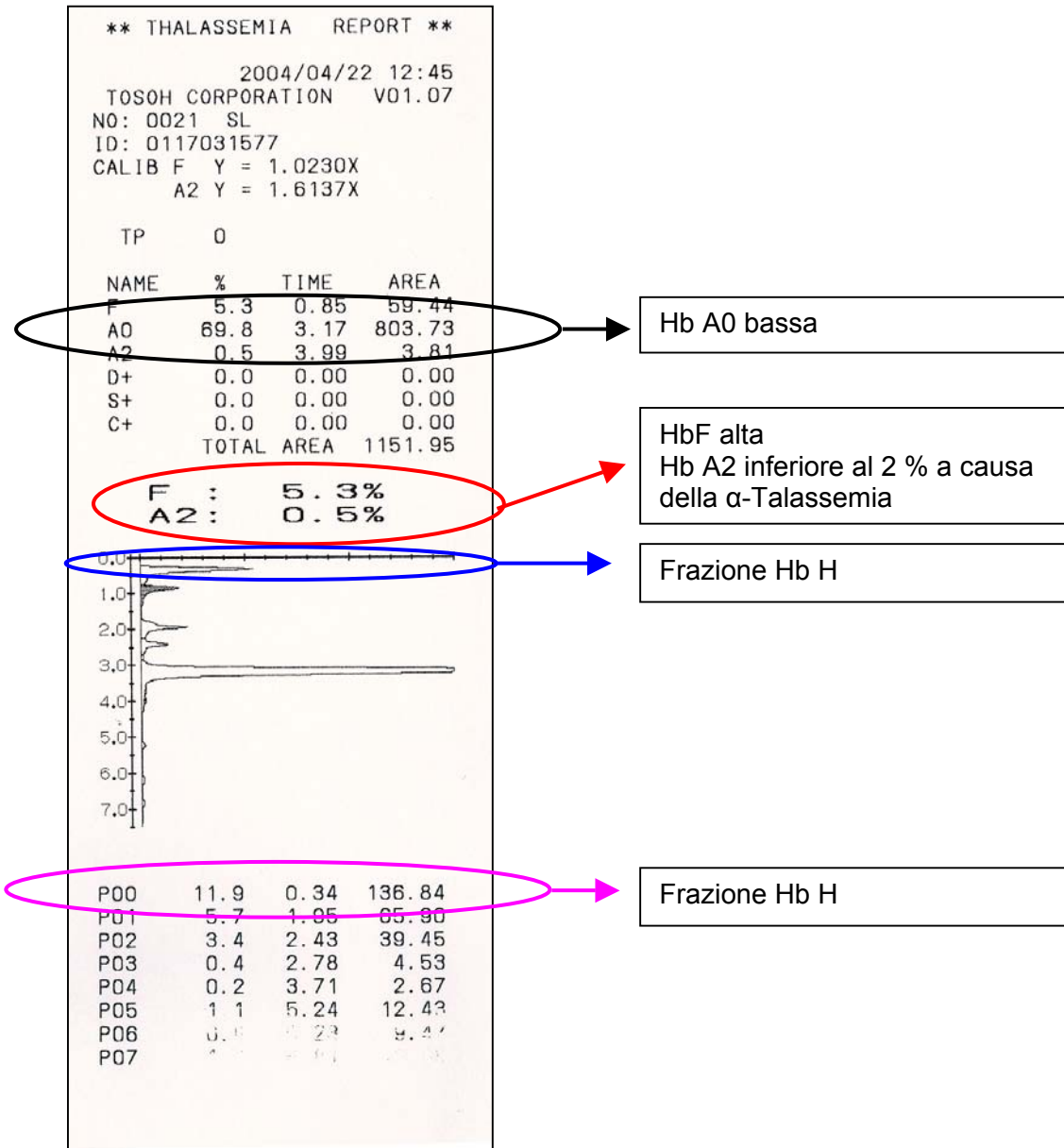
**Il risultato HbF è dichiarabile  
La frazione Hb A2 è falsamente alta  
per la co-eluzione di Hb E**

## Campione $\alpha$ -Talassemia con HbH (1)

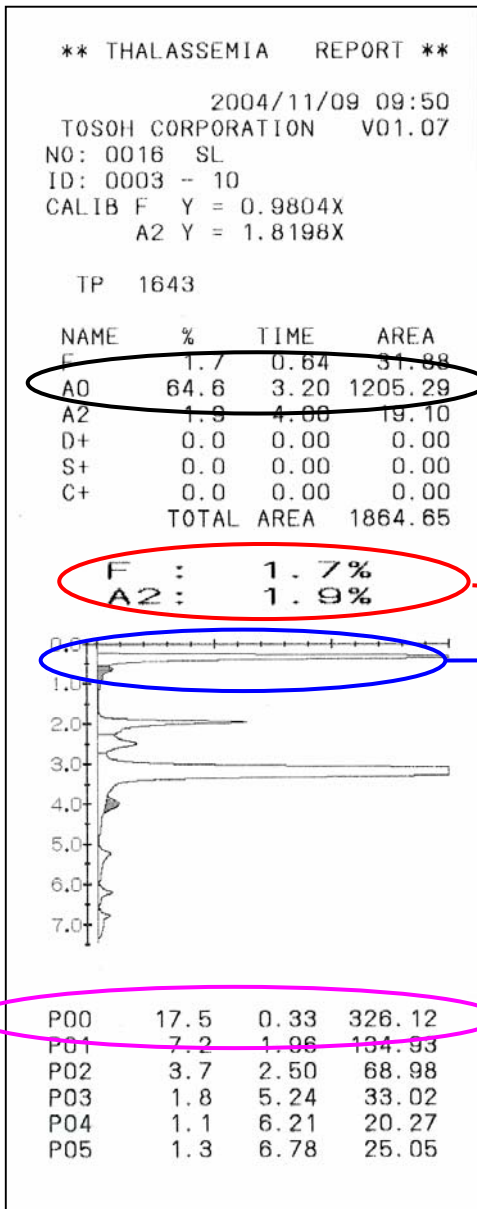


**Risultato dichiarabile  
per Hb A2 e HbF**

## Campione $\alpha$ -Talassemia con HbH (2)



## Campione $\alpha$ -Talassemia con Hb di Bart



Hb A0 bassa

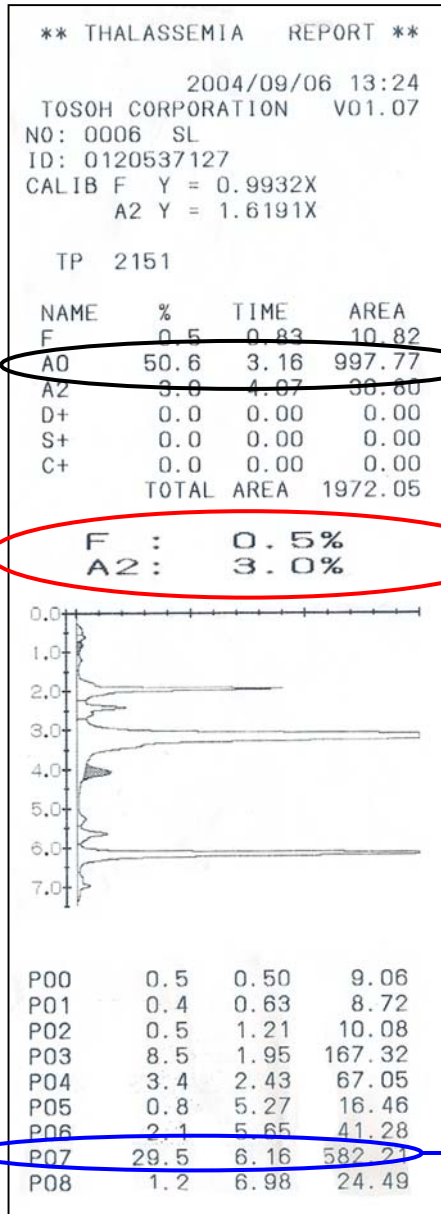
HbF normale  
Hb A2 leggermente bassa

Hb di Bart

Hb di Bart

**Risultato dichiarabile  
per Hb A2 e HbF**

## Campione HbA/O-Arab eterozigote



Frazione Hb A0 50.6 %

Entrambe le frazioni sono nella norma.

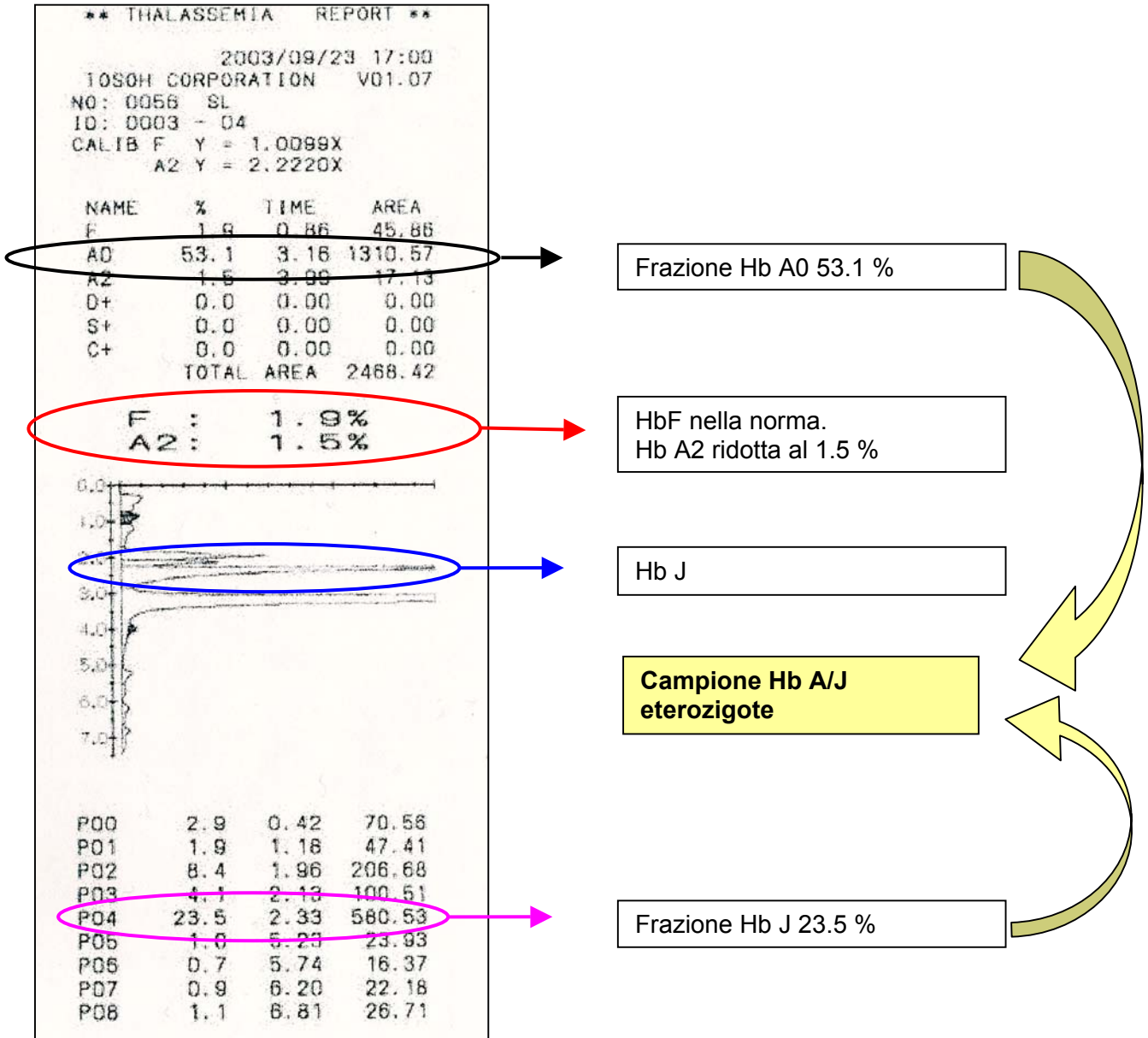
**Campione Hb A/O-Arab eterozigote**

Frazione Hb O-Arab 29.5 %

**Risultato dichiarabile per Hb A2 e HbF**

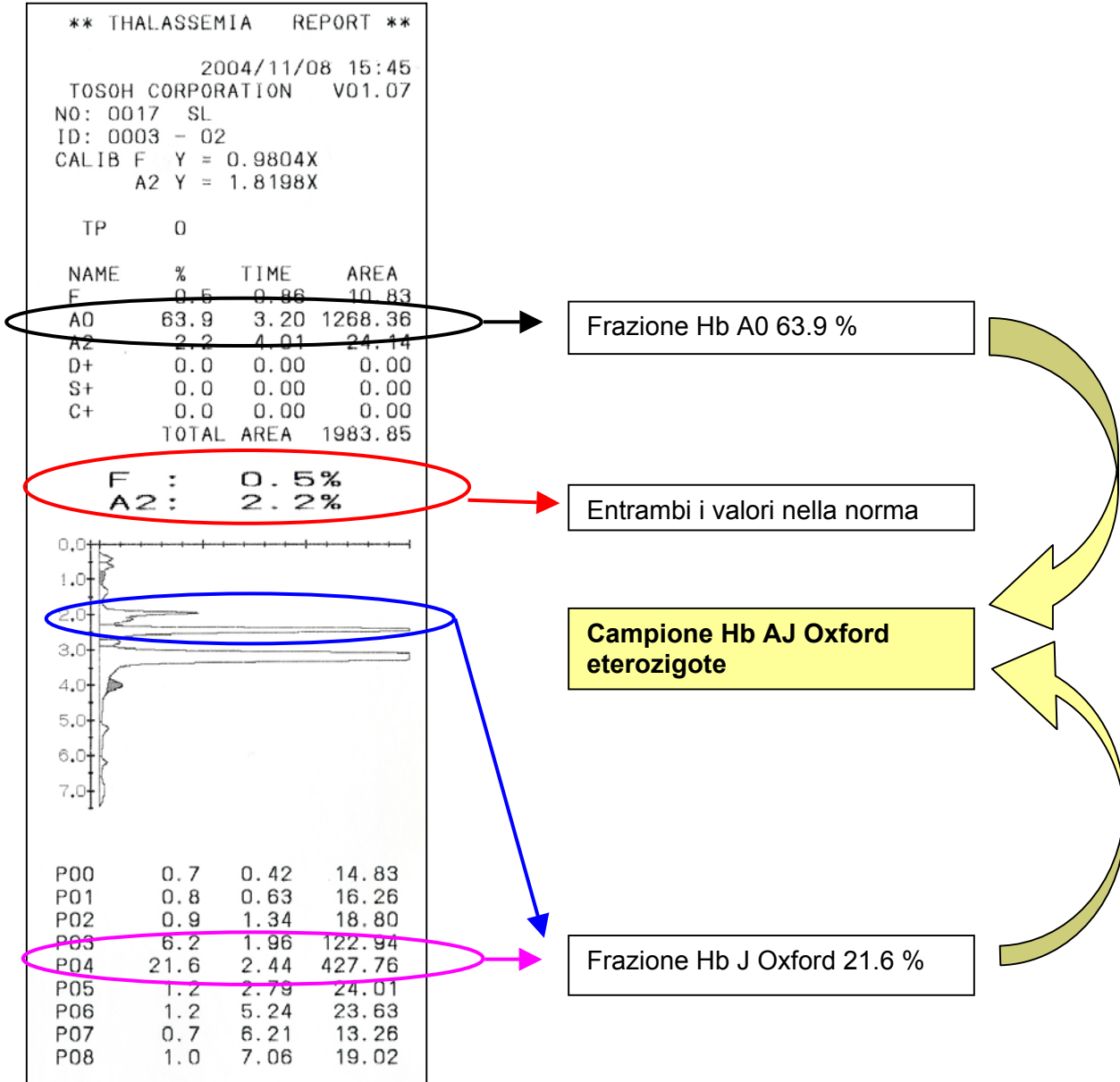


## Campione HbA/J eterozigote



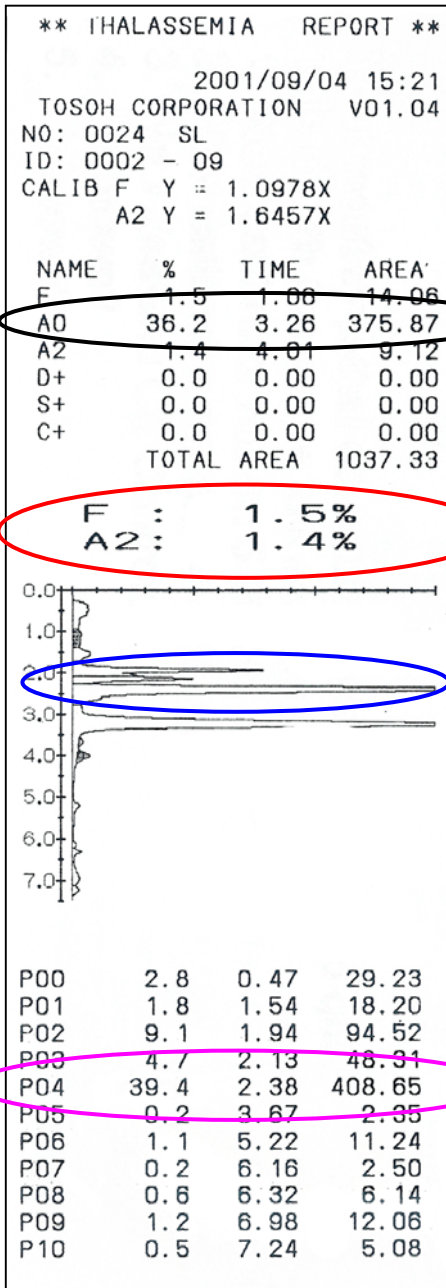
**Risultato dichiarabile per Hb A2 e HbF**  
**Aggiungere una nota specificando che Hb A2 è inferiore alla norma**

## Campione HbA/J-Oxford eterozigote



**Risultato dichiarabile  
per Hb A2 e HbF**

## Campione HbA/J-Baltimore eterozigote (1)



Frazione Hb A0 36.2 %

HbF nella norma.  
Hb A2 ridotta all'1.4 %

Hb J Baltimore

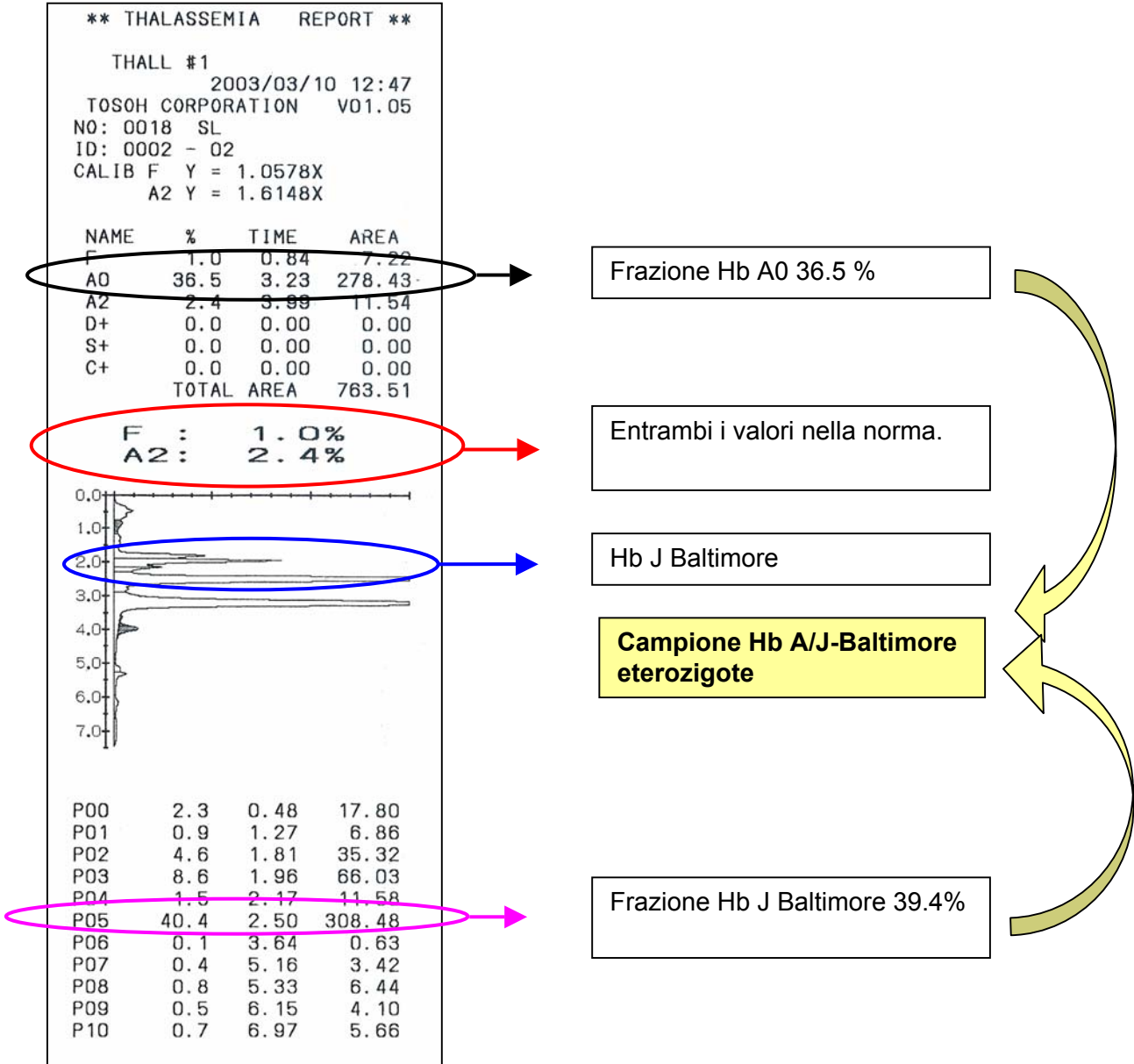
**Campione Hb A/J-Baltimore eterozigote**

Frazione Hb J Baltimore  
39.4%

**Risultato dichiarabile per Hb A2 e HbF**

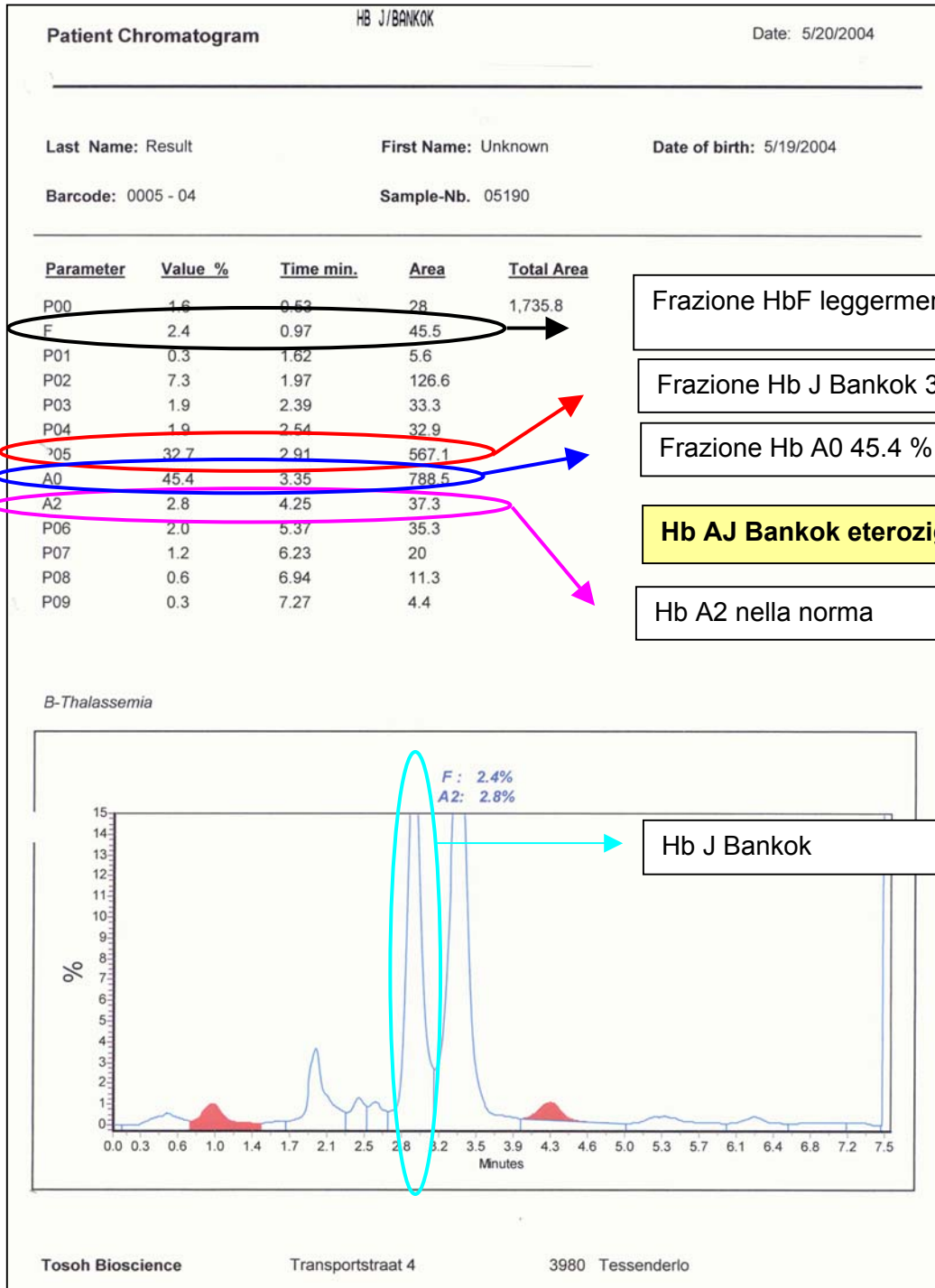
**Aggiungere una nota specificando che Hb A2 è inferiore alla norma**

## Campione HbA/J-Baltimore eterozigote (2)



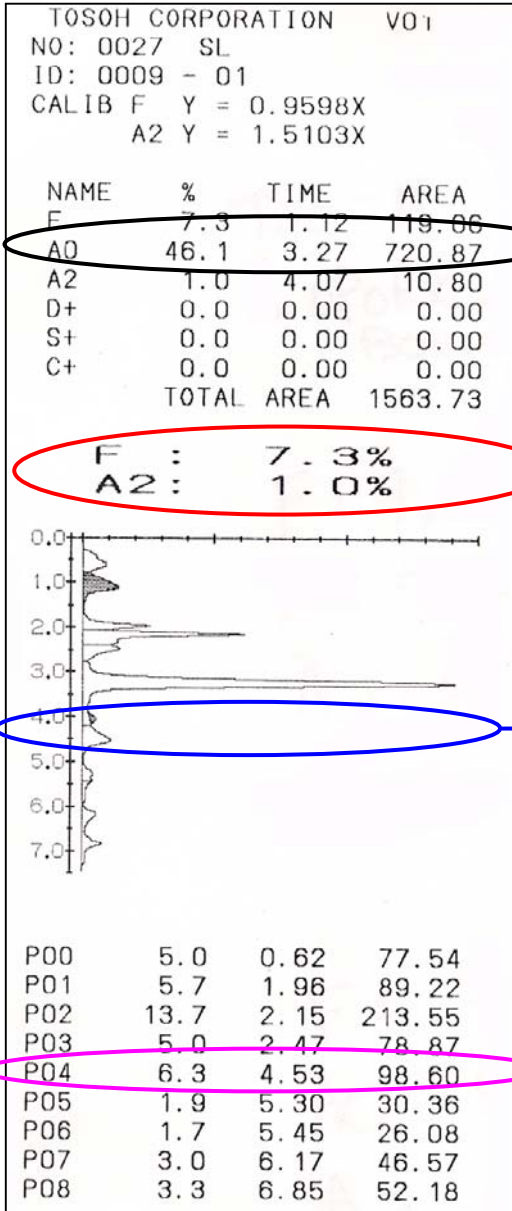
**Risultato dichiarabile  
per Hb A2 e HbF**

## Campione HbA/J-Bangkok eterozigote



Risultato dichiarabile  
per Hb A2 e HbF

## Campione HbA/Lepore eterozigote



Hb A0 ridotta

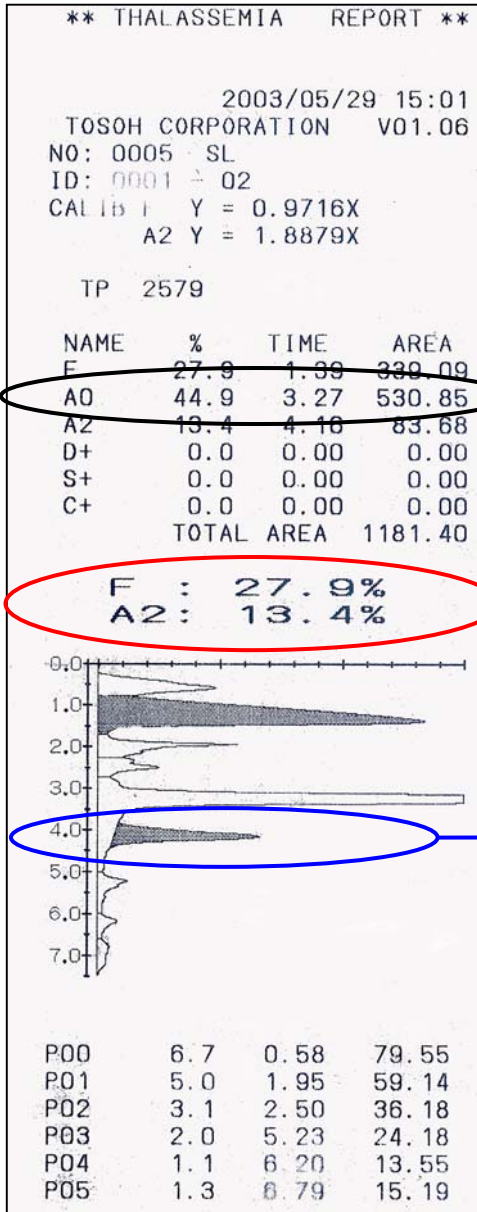
HbF leggermente alta.  
 Hb A2 inferiore al 2% a causa  
 della variante della catena delta

Frazione Hb Lepore (= variante  
 catena delta)

**Risultato dichiarabile  
 per Hb A2 e HbF**



## Campione HbA/Lepore coesistente con $\beta$ -Talassemia eterozigote



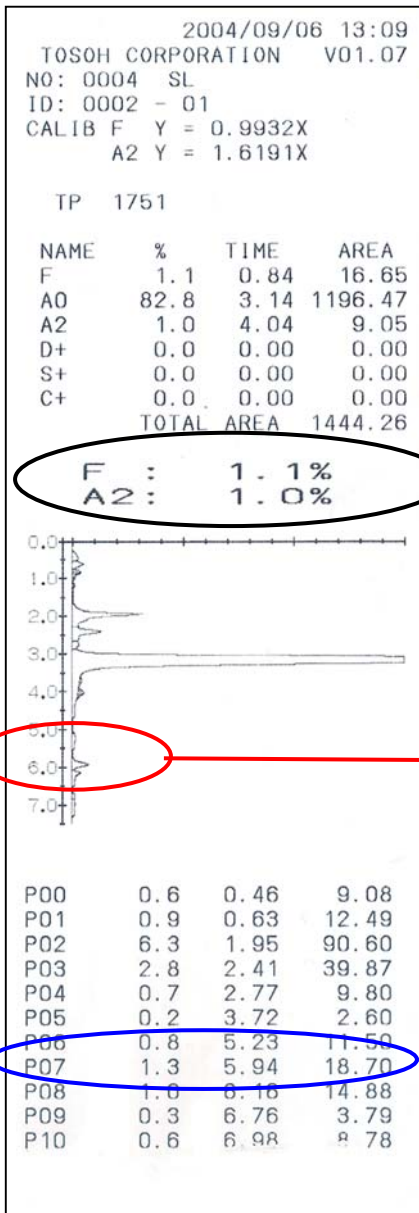
Frazione Hb A0 ridotta al 44.9 %

HbF altissima.  
Hb A2 eluisce con Hb Lepore

Hb A2 + Hb Lepore

**Il risultato HbF è dichiarabile  
La frazione Hb A2 è falsamente alta  
per la co-eluzione di Hb Lepore**

## Campione variante della catena Delta



HbF nella norma.  
Hb A2 dell'1 % solamente

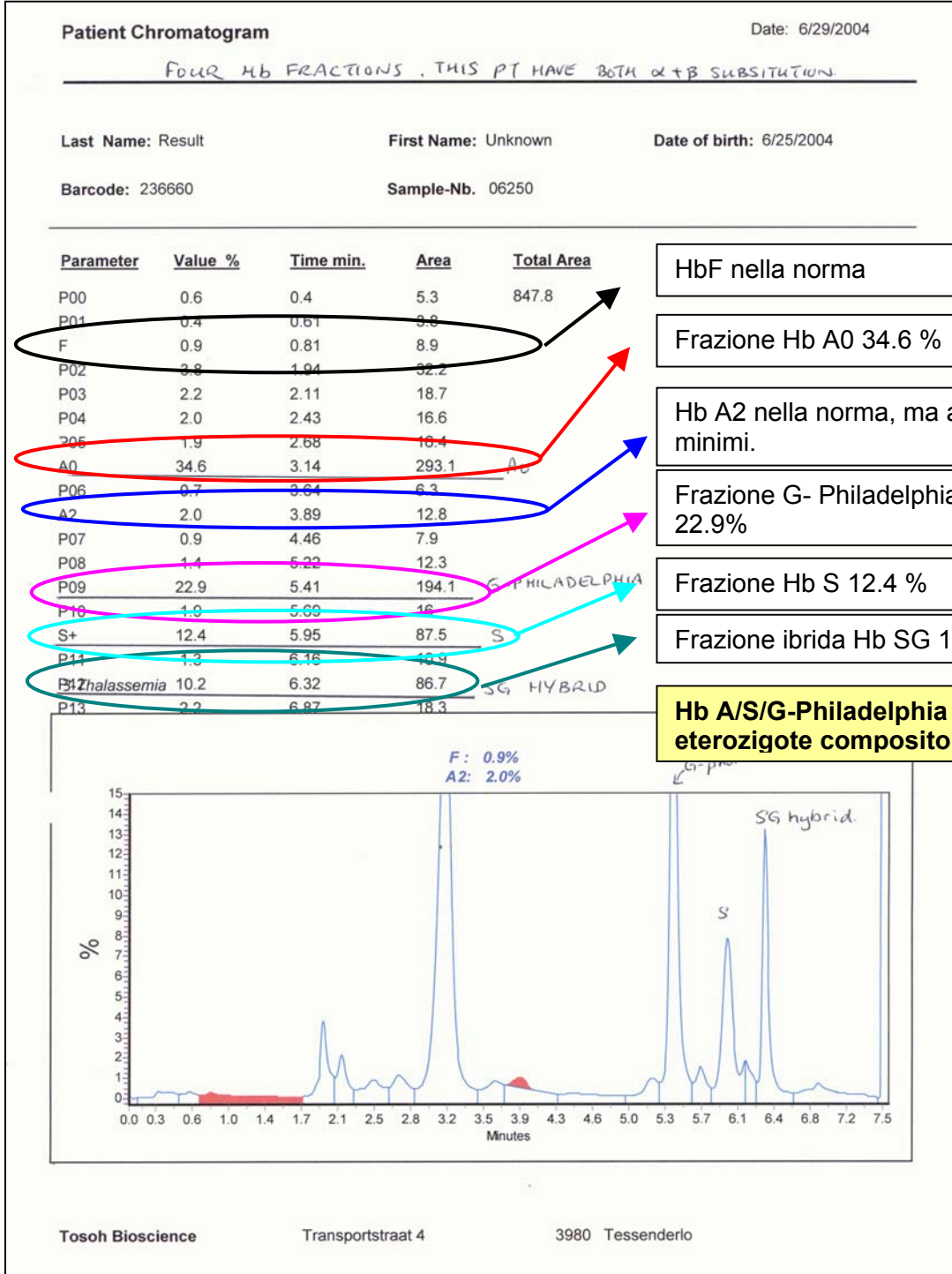
Variante catena Delta

La variante della catena delta  
eluisce nella finestra S a  
5.94 min.

**Risultato dichiarabile per HbF  
HbA2 è bassa a causa della variante della  
catena delta; sono raccomandate ulteriori  
indagini**

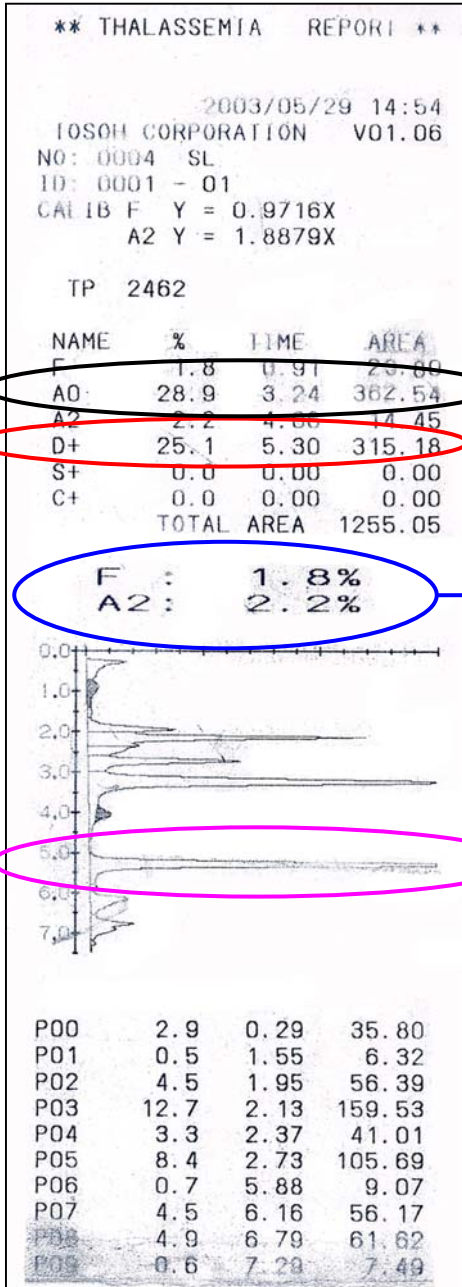


# Campione HbA/S/G-Philadelphia eterozigote composto complesso



**Risultato dichiarabile per Hb A2 e HbF**

## Campione HbA/G-Philadelphia eterozigote



**Campione Hb A/G-Philadelphia eterozigote**

Frazione Hb A0 28.9 %

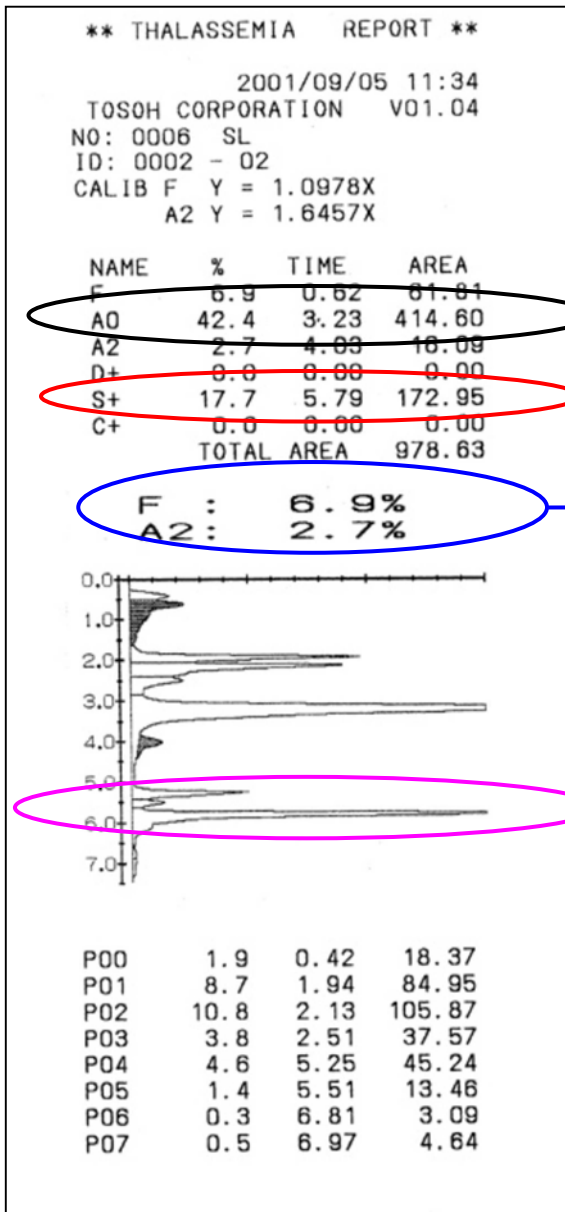
Hb G-Philadelphia eluisce nella finestra D al 25.1%

Entrambi i valori nella norma.

Hb G-Philadelphia

**Risultato dichiarabile per Hb A2 e HbF**

## Campione HbA/G-San José eterozigote



**Campione Hb A/G-San José eterozigote**

Frazione Hb A0 42.4 %

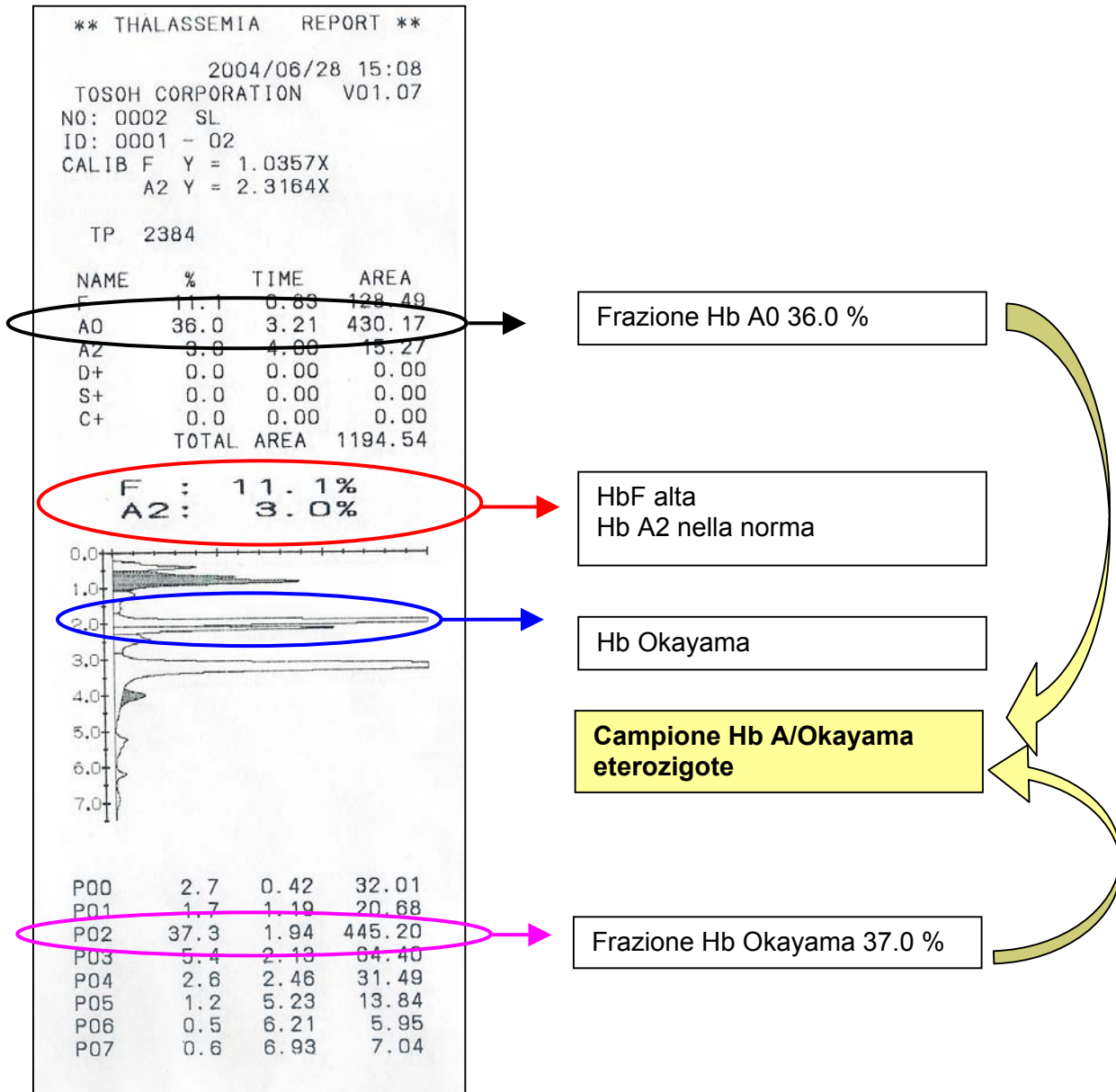
Hb G-San José eluisce nella finestra S a 17.7 %

HbF alta.  
Hb A2 nella norma

Hb G-San José

**Risultato dichiarabile per Hb A2 e HbF**

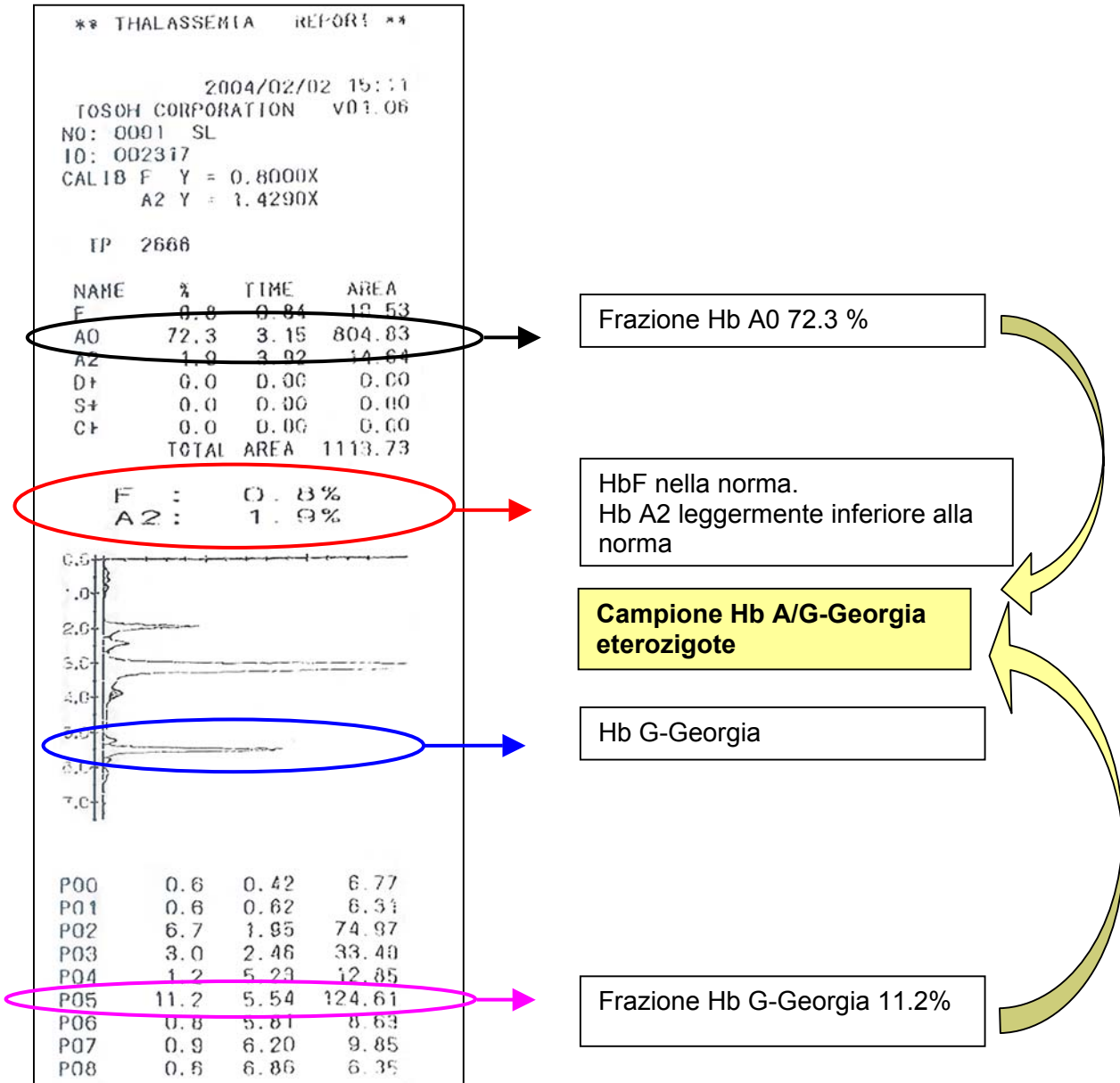
## Campione HbA/Okayama eterozigote



**Risultato dichiarabile  
per Hb A2 e HbF**

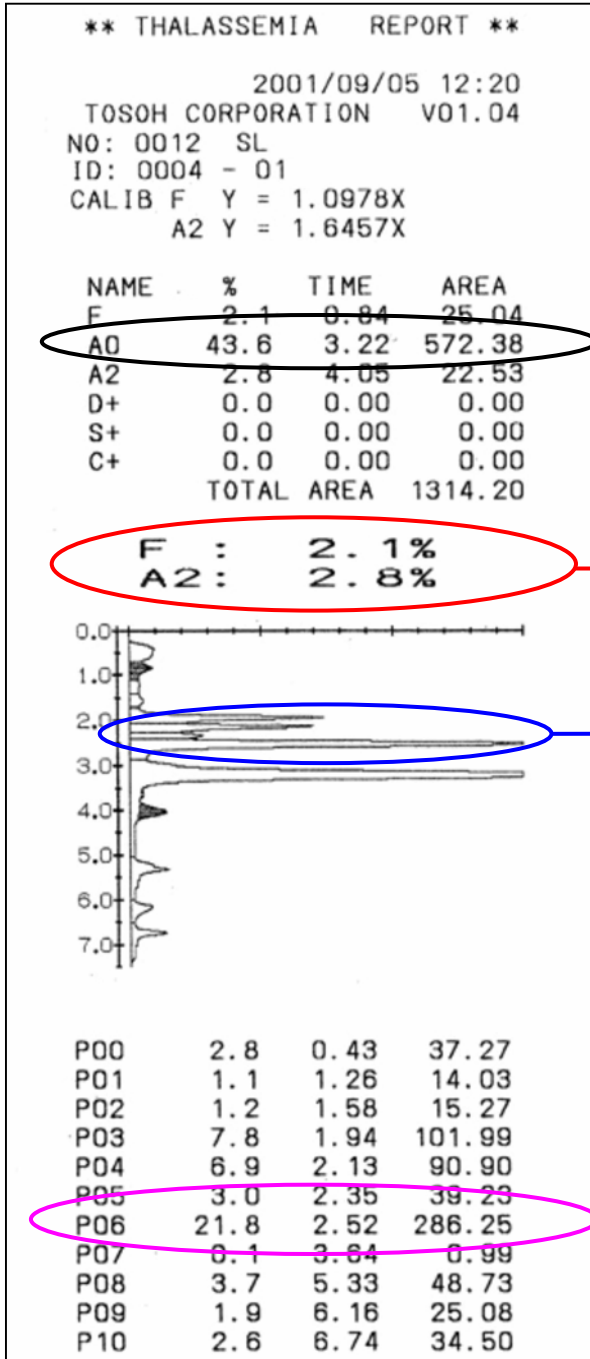


## Campione HbA/G-Georgia eterozigote



**Risultato dichiarabile  
per Hb A2 e HbF**

## Campione A/Fannin Lubbock eterozigote



Frazione Hb A0 43.6 %

HbF leggermente alta  
Hb A2 nella norma

Hb Fannin-Lubbock

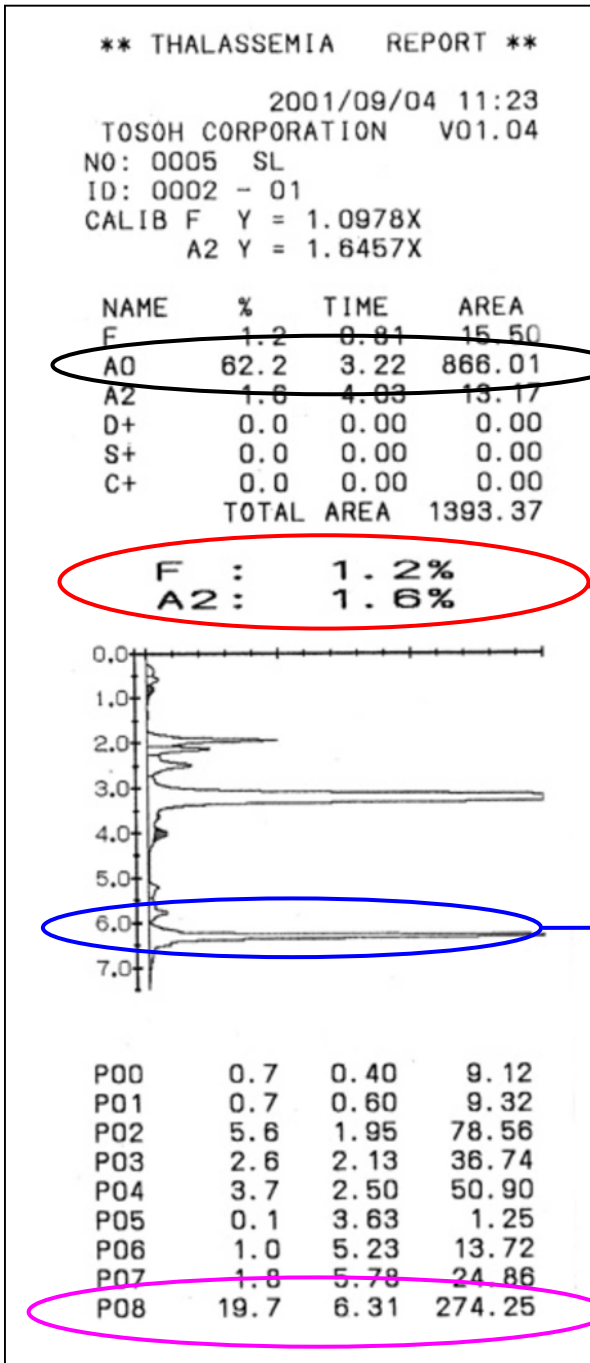
**Campione Hb A/Fannin  
Lubbock eterozigote**

Frazione Hb Fannin-Lubbock  
21.8%

**Risultato dichiarabile  
per Hb A2 e HbF**



### Campione HbA/Hasharon eterozigote



Frazione Hb A0 62.2 %

HbF nella norma  
Hb A2 leggermente bassa

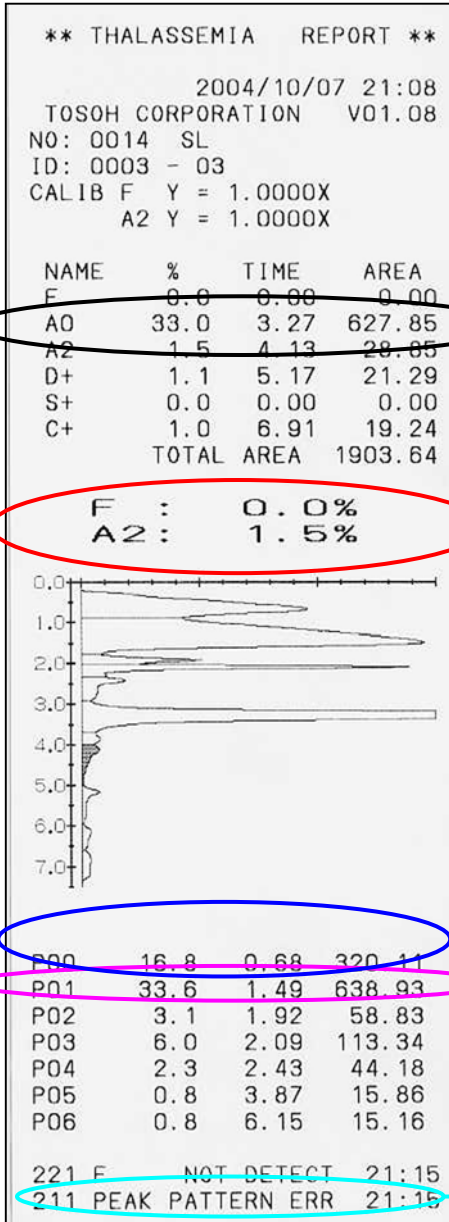
**Campione Hb A/Hasharon eterozigote**

Hb Hasharon

Frazione Hb Hasharon 19.7%

**Risultati dichiarabili per Hb A2 e HbF  
Aggiungere una nota specificando che Hb A2 è inferiore alla norma**

## Campione con persistenza ereditaria di emoglobina fetale



Frazione Hb A0 ridotta

HbF persa a causa della larghezza della frazione. Hb A2 non è calibrata

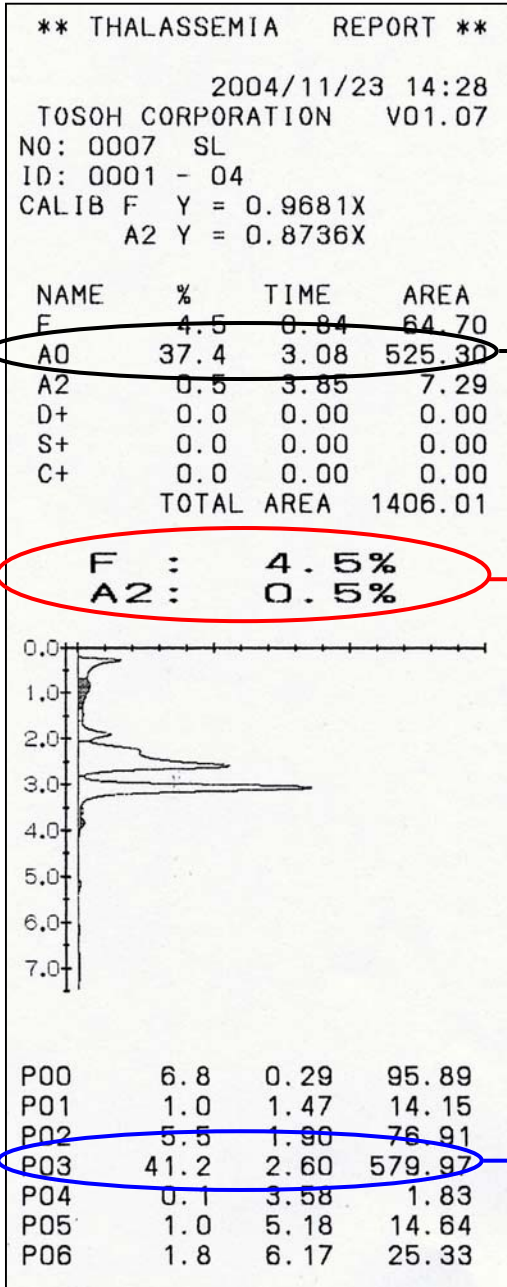
Questa frazione contiene HbF1c e altre frazioni HbF

HbF molto più alta

Per perdita HbF

**Esigenza di calibrare e ottenere la frazione HbF nella finestra per HbF**

## Leucemia mieloide acuta tipo M0



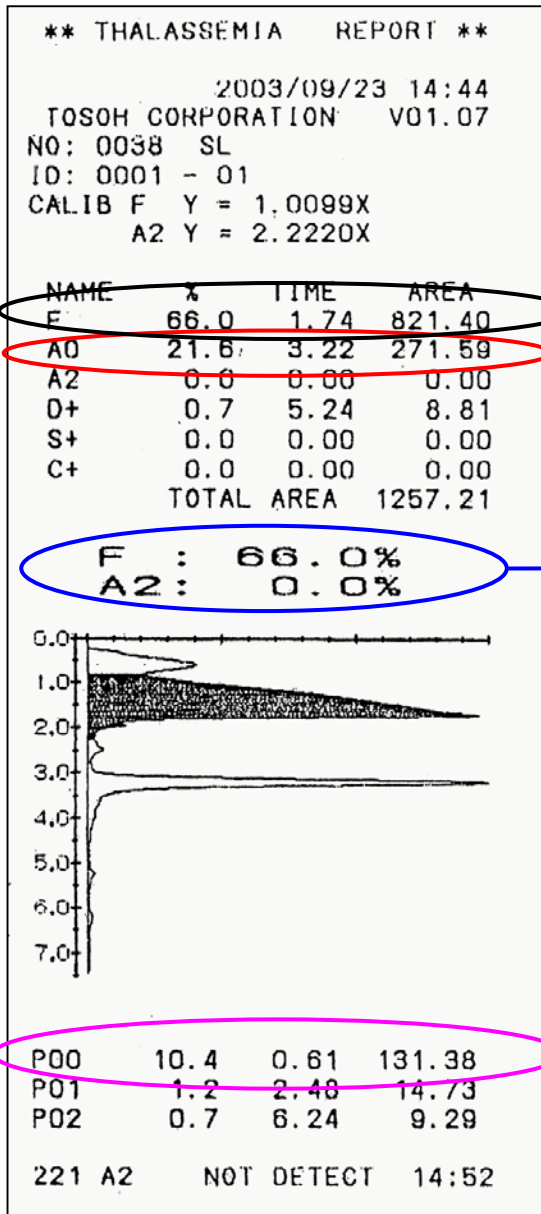
Hb A0 molto bassa

HbF alta  
Hb A2 molto bassa

Frazioni di scomposizione Hb A0

**Risultato dichiarabile  
per Hb A2 e HbF**

## Campione neonatale normale (1)



Grande frazione HbF

Inizio formazione Hb A0

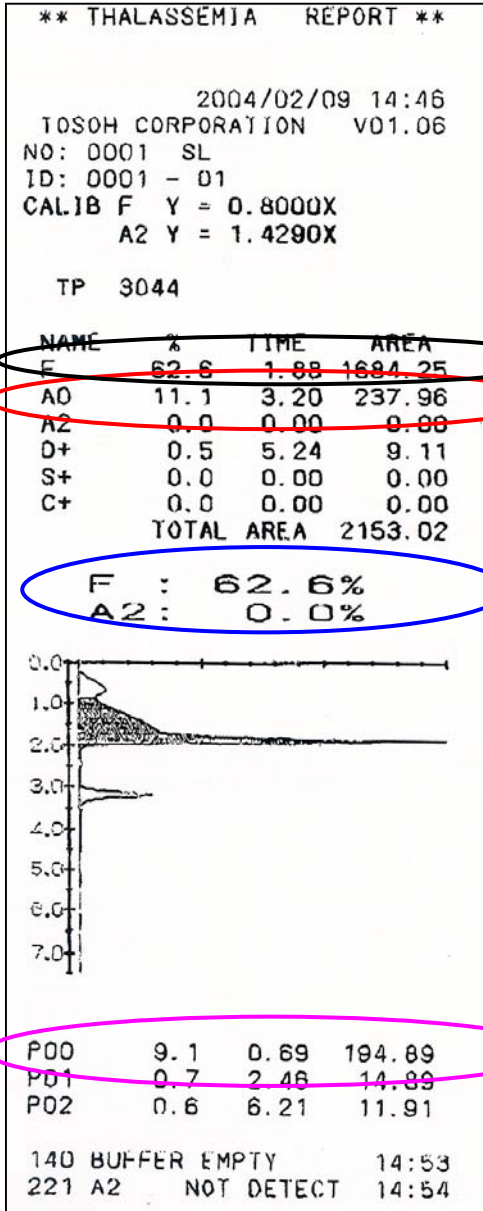
HbF altissima perché si tratta di un campione neonatale. Frazione Hb A2 ancora in formazione

Contiene Hb F1c e altri prodotti di scomposizione HbF

**Risultato dichiarabile per Hb A2 e HbF.  
Non si possono usare i range normali**



## Campione neonatale normale (2)



Grande frazione HbF

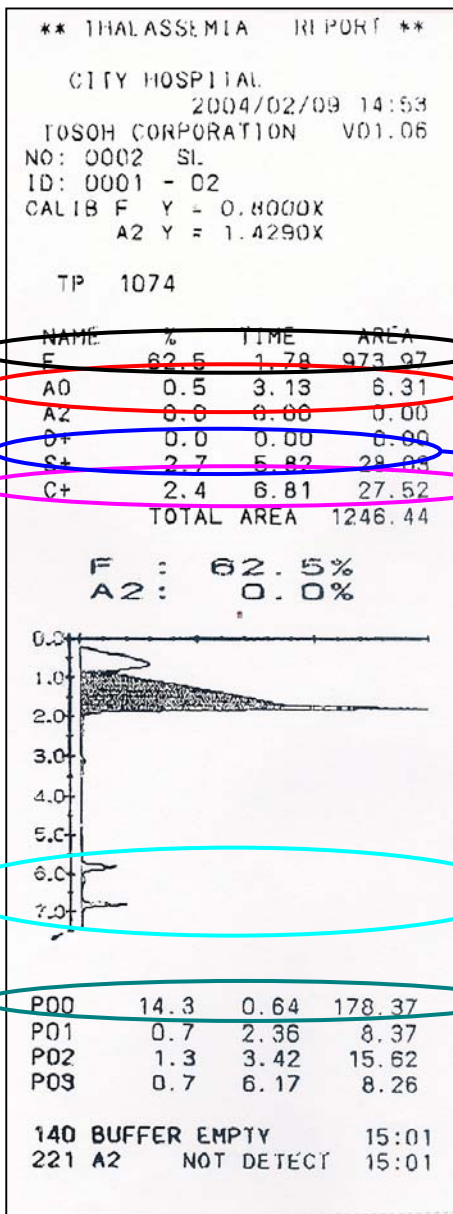
Inizio formazione Hb A0

HbF altissima perché si tratta di un campione neonatale. Frazione Hb A2 ancora in formazione

Contiene Hb F1c e altri prodotti di scomposizione HbF

**Risultato dichiarabile per Hb A2 e HbF.  
Non si possono usare i range normali**

## Campione neonatale HbS/C eterozigote composito



Frazione HbF ancora 62.5 %

Nessuna formazione di Hb A0

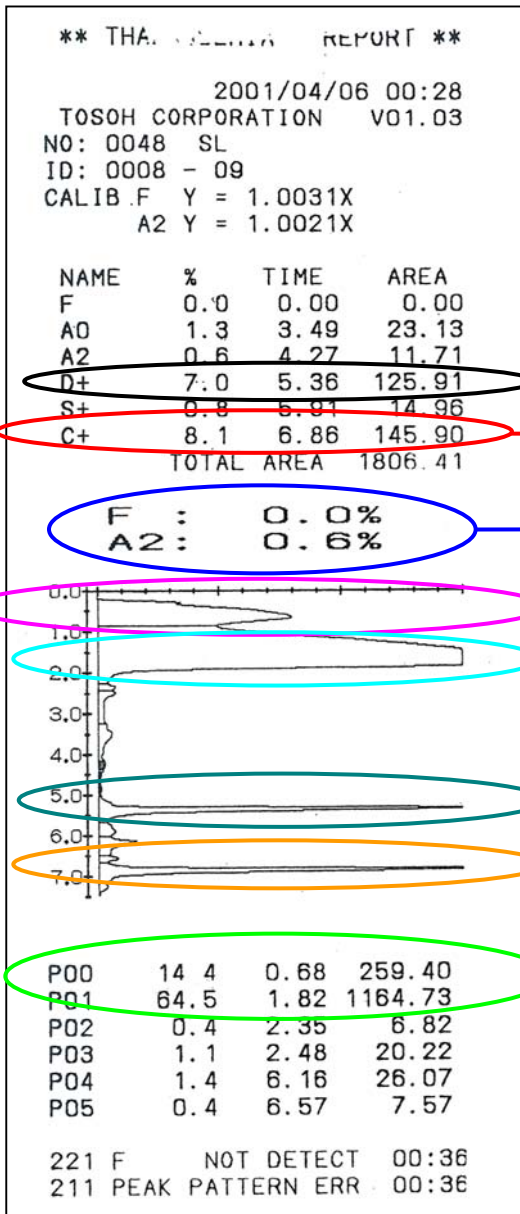
Formazione di Hb S e Hb C

Formazione in corso di Hb S e Hb C

Contiene Hb F1c e altri prodotti di scomposizione HbF

**Risultati dichiarabili per Hb A2 e HbF.  
Non si possono usare i range normali**

## Campione neonatale HbD/C eterozigote composito



Sviluppo di Hb D

Sviluppo di Hb C

HbF non è nella finestra F.  
Hb A2 indica uno 0.6 %, ma il valore è falsato dall'integrazione di base

Hb F1c e altri prodotti

HbF

Hb D

Hb C

Hb F accompagnato da Hb F1c  
+ altri prodotti di scomposizione

**Campione Hb D/C  
eterozigote composito**

**La frazione HbF deve trovarsi nella  
finestra corretta  
Il valore Hb A2 non è dichiarabile/non  
è accurato**

## **Informazioni tecniche: Predisposizione della colonna $\beta$ -Tal**

### **1. Sintesi**

Alcune colonne TSKgel G7  $\beta$ -Talassemia HSi possono presentare un picco A2 molto ridotto o possono non presentare alcun picco A2 nemmeno quando sono nuove nella modalità di analisi Beta talassemia su HLC-723G7. Il presente documento spiega come risolvere il problema se si presenta.

### **2. Anomalia**

Alcune colonne nuove, anche durante la calibrazione, mostrano un picco A2 molto ridotto o non mostrano nessun picco A2. Il problema può essere identificato quando viene effettuata una calibrazione e si riceve un nuovo fattore di calibrazione superiore a 2.5.

### **3. Procedura di **invecchiamento****

Il problema può essere risolto seguendo il procedimento descritto di seguito.

#### **(1). Preparazione: uso di sangue intero**

- 1) Preparare 3 coppette campione e pipettare 500 $\mu$ L di sangue intero in ciascuna delle 3 coppette campione.
- 2) Distribuire 1000 $\mu$ L di acqua distillata in ciascuna delle 3 coppette per emolizzare e diluire i campioni.
- 3) Sistemare le coppette con i campioni su un rack.

#### **(2). Invecchiamento**

- 1) Impostare i tamponi per la modalità di analisi Beta talassemia su HLC-723G7.
- 2) Avviare il sistema con modalità di analisi Variant, in modo da ottenere l'invecchiamento in tempi più brevi.
- 3) Mettere il rack con i campioni preparato al precedente punto (1) sullo strumento e premere il tasto Start.
- 4) Ripetere la misurazione dei campioni per cinque volte con lo stesso rack. Verranno iniettati in tutto 15 campioni in un tempo di 35 min.
- 5) Interrompere la misurazione premendo il tasto Stop.

#### **(3). Conferma del corretto funzionamento della colonna**

Effettuando la calibrazione in modalità di analisi  $\beta$ -talassemia, confermare che il fattore di calibrazione è tornato a meno di 2.5.

## **Bibliografia**

- Adrain Stephens; Haemoglobinopathies; The Biomedical Scientist; 2004, July, 1-4
- Anita J. Catlin; Thalassemia: The facts and the controversies; Pediatric Nursing, November-December 2003, 29 (6), 447-451
- Barbara J. Bain; Haemoglobinopathy Diagnosis; 2001 Blackwell Science Ltd.
- Nancy F. Olivieri; The  $\beta$ -thalassemias; The New England Journal of Medicine, 1999, July 8, 341 (2), 99-109
- P.C.Giordano, M.Herruer, W.Huisman, J.G.J.Pouwels, J.Smit, N.Verhoef, P.Wijermans; Rapport van de werkgroep hemoglobinopathieën van de vereniging hematologische laboratoriumonderzoek. Enquêteresultaten en aanbevelingen t.b.v. dragerschapdiagnostiek en preventie van de hemoglobinopathieën. Uitgegeven door de leden van het landelijk werkgroep hemoglobinopathieën van de vereniging van hematologische laboratoria.
- The laboratory diagnosis of haemoglobinopathies; British Journal of Haematology, 1998, 101, 783-792

### **Molte informazioni sono state prese dai seguenti siti Internet:**

- [www.hbpinfo.com/en/](http://www.hbpinfo.com/en/)
- [www.thalassemia.org/](http://www.thalassemia.org/)
- [www.thalassaemia.org.cy/](http://www.thalassaemia.org.cy/)
- [www.thalassemia.com/](http://www.thalassemia.com/)
- [www.ukts.org/](http://www.ukts.org/)
- [www.urmc.rochester.edu/genetics/hemobroc.htm](http://www.urmc.rochester.edu/genetics/hemobroc.htm)
- [www.uq.edu.au/vdu/HDUHaemoglobinopathies.htm](http://www.uq.edu.au/vdu/HDUHaemoglobinopathies.htm)
- [globin.cse.psu.edu/globin/hbvar/](http://globin.cse.psu.edu/globin/hbvar/)
- [sickle.bwh.harvard.edu/](http://sickle.bwh.harvard.edu/)

## Glossario

**Acidosi** = Aumento anomalo dell'acidità nei fluidi, causato da un accumulo di acidi o dalla deplezione di bicarbonati

**Aggregarsi** = Raccogliersi in una massa, somma o gruppo

**Amniocentesi** = Procedura di estrazione di un piccolo campione di fluido amniotico dall'utero attraverso un ago inserito nell'addome. Il fluido viene quindi analizzato per rilevare anomalie genetiche nel feto o per determinare il sesso del feto

**Anemia** = carenza di eritrociti e/o emoglobina. Tale carenza riduce la capacità del sangue di trasferire ossigeno ai tessuti. L'emoglobina deve essere presente per assicurare un'adeguata ossigenazione di tutti i tessuti. L'anemia è la malattia del sangue più comune. Ci sono diversi tipi di anemia che derivano da cause molto diverse. L'anemia viene classificata in base alla grandezza degli eritrociti: inferiore (*microcitica*), normale (*normocitica*) o superiore (*macrocitica* o *megaloblastica*).

**Atrofia** = Degenerazione o diminuzione del volume e del peso di un organo, di un tessuto o di una parte in seguito a malattia, ferita o scarso utilizzo

**Autosomi** = Tutti i cromosomi tranne quelli sessuali

**Colelitiasi** = calcoli biliari = corpi cristallini che si formano in seguito all'aumento o alla concrezione di componenti normali o anomali della bile

**Villo corionico** = Ognuna delle estroflessioni ramificate del corion fetale che si combinano con il tessuto uterino materno per formare la placenta

**Cromosoma** = Struttura filiforme costituita da DNA e proteine nel nucleo di cellule eucariotiche, che porta i geni e funziona nella trasmissione di informazioni ereditarie

**Codone** = Sequenza di tre nucleotidi adiacenti che costituisce il codice genetico che determina l'inserzione di uno specifico aminoacido in una catena polipeptidica durante la sintesi proteica o il segnale di interrompere la sintesi proteica

**Oso corticale** = L'osso corticale rappresenta quasi l'80% della massa scheletrica. E' detto anche *osso compatto*, perché rappresenta il guscio esterno protettivo di ogni osso del corpo

**Eritrociti** = **Globuli rossi** Sono le cellule più comuni nel sangue, e nei vertebrati svolgono la funzione di portare ossigeno ai tessuti attraverso il sangue. I globuli rossi si chiamano anche **eritrociti**, dal greco *erythros* (rosso) e *kytos* (cavità, oggi tradotto con "cellula"). RBC (Red Blood Cell)

**Eritrocitosi** = Aumento temporaneo del numero di globuli rossi

**Eritroide** = Relativo agli eritrociti

**Eritropoiesi** = Formazione o produzione di eritrociti

**Extramidollare** = Fuori dal midollo

**Genotipo** = Complesso dell'informazione genetica, presente in un organismo o gruppo di organismi

**Ematopoietico** = Relativo alla formazione di sangue o cellule ematiche; "cellule emopoietiche staminali nel midollo osseo"

**Ematuria** = Presenza di sangue nelle urine; è spesso sintomo di malattie del tratto urinario

**Emolisi** = Citolisi di eritrociti con diffusione di emoglobina

**Anemia emolitica** = Anemia risultante dalla distruzione di eritrociti

**Emopoietico** = Relativo alla formazione di sangue o di cellule ematiche; "cellule emopoietiche staminali nel midollo osseo"



- Emorragia** = Perdita di sangue interna o esterna
- Emosiderina** = Sostanza granulare marrone composta da ossido ferrico lasciata dalla scomposizione dell'emoglobina; può indicare un disturbo del metabolismo del ferro
- Emosiderosi** = Deposito anomalo di emosiderina; è spesso sintomo di talassemia o di emocromatosi
- Epatomegalia** = Aumento anomalo del volume del fegato
- Ipersplenismo** = Diminuzione di uno o più tipi di cellule ematiche associata a diverse malattie
- Ipertrofia** = Aumento del volume di un organo
- Ipocromico** = Diminuzione anomala del contenuto di emoglobina negli eritrociti
- Ipoglicemia** = Stato patologico prodotto e generalmente definito da una quantità di zucchero (glucosio) inferiore alla norma nel sangue
- Ipostenuria** = Condizione caratterizzata dall'incapacità di formare urine con alto peso specifico
- Ipossia** = Mancanza di ossigeno nei tessuti
- Ipossico** = Stato di mancanza di ossigeno nei tessuti
- Inclusione** = Corpuscolo intracellulare (caratteristica di alcune patologie)
- Intrauterino** = Che avviene o si trova nell'utero
- Ischemia** = Anemia locale in una parte del corpo, a volte causata da vasocostrizione, da trombosi o da embolia
- Itterizia** = Colorazione giallastra delle sclere, della cute e delle mucose causata dal deposito di sali biliari nei tessuti. E' sintomo di varie malattie, come l'epatite, che influiscono sulla produzione della bile. E' detta anche *ittero*
- Malaria Tropica** = Malattia infettiva caratterizzata da brividi, attacchi di febbre e sudorazione, causata da un protozoo del genere *Plasmodium* nei globuli rossi, che viene trasmesso all'uomo dalla puntura di una zanzara *Anopheles* femmina
- Microcitico** = Con eritrociti di volume inferiore alla media
- Microcitosi** = Malattia del sangue caratterizzata dalla presenza di microciti (eritrociti di volume inferiore alla norma) nel sangue, spesso associata all'anemia
- Microvasi** = Parte del sistema circolatorio composta dai vasi più piccoli, come capillari, arteriole e venule
- Neonatale** = Relativo a neonati o bambini piccoli
- Normocromico** = Avente un normale contenuto di emoglobina
- Normocitico** = Eritrociti di volume normale
- Fragilità osmotica** = Il test della fragilità osmotica ha lo scopo di rilevare l'eccessiva fragilità degli eritrociti
- Fagocitosi** = Processo in cui i fagociti assumono e inglobano microrganismi e particelle di origine biologica; è un'importante difesa contro le infezioni
- Fenocopia** = Variazione in un organismo indotta dall'ambiente e non ereditaria, molto simile a un tratto determinato geneticamente
- Fenotipo** = Caratteristiche fisiche o biochimiche osservabili in un organismo, determinate dalla composizione genetica o da influenze ambientali
- Plasmodium falciparum** = Plasmodio, causa della malaria tropica
- Polipeptide** = Peptide, come ad esempio una piccola proteina, contenente molte molecole di aminoacidi, generalmente tra 10 e 100

**Postpartum** = Periodo che inizia immediatamente dopo la nascita di un bambino e si estende per circa sei settimane. E' detto anche periodo postnatale o puerperio

**Protoporfirina** = Porfirina priva di metalli,  $C_{32}H_{32}N_4(COOH)_2$ , che si combina con il ferro ferroso per formare il gruppo di emi nell'emoglobina e nella mioglobina, e con il ferro ferrico per formare il gruppo emina nella catalasi e in alcuni citocromi

**Sequela** = Condizioni patologiche in seguito a malattia

**Sequestrazione** = Azione che porta alla formazione di chelato o altro composto stabile con uno ione, un atomo o una molecola, in modo che non sia più disponibile per altre reazioni

**Splenectomia** = Asportazione chirurgica della milza

**Splenomegalia** = Aumento di volume della milza

**Trombosi** = Formazione o presenza di un trombo (coagulo di sangue) in un vaso sanguigno

**Tossiemia** = **Pre-eclampsia** (un tempo chiamata *tossiemia*). Malattia ipertensiva della gravidanza. Sussiste quando, durante la gravidanza, una donna con ipertensione gestazionale sviluppa una proteinuria. Un tempo l'edema era considerato legato alla sindrome di pre-eclampsia, ma attualmente i primi due sintomi sono sufficienti per fare una diagnosi di *pre-eclampsia*.

**Trascrizione** = Processo attraverso il quale l'RNA messaggero viene sintetizzato da uno stampo del DNA con conseguente trasferimento di informazioni genetiche dalla molecola di DNA all' RNA messaggero

**Traslazione** = Processo attraverso il quale l'RNA messaggero dirige la sequenza di aminoacidi di un polipeptide in crescita durante la sintesi delle proteine

**Vaso-occlusivo** = Che blocca i vasi sanguigni